

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vergleichende Untersuchung der Wirkung von
Lokalanästhetika bei der Saugferkelkastration anhand des
Abwehrverhaltens sowie die Erfassung von
Nebenwirkungen

von Nora Sabina Abendschön

aus Schwaigern

München 2021

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Mitbetreuung durch: Dr. Susanne Zöls, Dr. Steffanie Senf

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. Dorothea Döring

Tag der Promotion: 17. Juli 2021

Die vorliegende Arbeit wurde gemäß § 6 Abs. 2 der Promotionsordnung für die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München in kumulativer Form verfasst.

Folgende wissenschaftliche Arbeit ist in dieser Dissertationsschrift enthalten:

Local Anesthesia in Piglets Undergoing Castration – A Comparative Study to Investigate the Analgesic Effects of Four Local Anesthetics Based on Defensive Behavior and Side Effects

Nora Abendschön ^{1,*}, Steffanie Senf ¹, Pauline Deffner ¹, Regina Miller ², Andrea Grott ², Julia Werner ³, Anna M. Saller ³, Judith Reiser ³, Christine Weiß ¹, Yury Zablotski ¹, Johannes Fischer ³, Shana Bergmann ², Michael H. Erhard ², Christine Baumgartner ³, Mathias Ritzmann ¹ and Susanne Zöls ¹

¹ Clinic for Swine, Center for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, 85764 Oberschleißheim, Bavaria, Germany; S.Senf@med.vetmed.uni-muenchen.de (S.S.); P.Deffner@med.vetmed.uni-muenchen.de (P.D.); C.Weiss@med.vetmed.uni-muenchen.de (C.W.); Y.Zablotski@med.vetmed.uni-muenchen.de (Y.Z.); Ritzmann@med.vetmed.uni-muenchen.de (M.R.); S.Zoels@med.vetmed.uni-muenchen.de (S.Z.)

² Chair of Animal Welfare, Ethology, Animal Hygiene and Husbandry, LMU Munich, 80539 Munich, Bavaria, Germany; r.miller@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (R.M.); a.schoerwerth@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (A.G.); s.bergmann@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (S.B.); m.erhard@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (M.H.E.)

³ Center of Preclinical Research, Technical University of Munich, 81675 Munich, Bavaria, Germany; julia.werner@tum.de (J.W.); anna.saller@tum.de (A.M.S.); judith.reiser@tum.de (J.R.); fischer.johannes@tum.de (J.F.); christine.baumgartner@tum.de (C.B.)

* Correspondence: Nora.Abendschoen@med.vetmed.uni-muenchen.de

Animals **2020**, 10(10), 1752; <https://doi.org/10.3390/ani10101752>

Received: 27 August 2020; Accepted: 24 September 2020; Published: 26 September 2020

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	ERWEITERTE LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Saugferkelkastration	3
1.1.	Indikationen für die Kastration männlicher Ferkel	3
1.2.	Gesetzliche Grundlagen.....	5
1.3.	Durchführung der chirurgischen Kastration von Saugferkeln..	6
1.4.	Verfahren zur Betäubung der chirurgischen Kastration.....	6
1.4.1.	Injektionsanästhesie	6
1.4.2.	Inhalationsanästhesie	7
1.4.3.	Lokalanästhesie	8
2.	Schmerz	9
2.1.	Definition	9
2.2.	Nozizeption.....	9
2.3.	Ausgewählte Methoden zur Schmerzbeurteilung bei der Kastration von Saugferkeln.....	10
2.3.1.	Physiologische Parameter	10
2.3.2.	Abwehrverhalten.....	11
2.3.2.1.	Abwehrbewegungen	11
2.3.2.2.	Vokalisation	12
2.3.3.	Verhalten im Hindernislauf.....	15
3.	Lokalanästhetika	16
3.1.	Pharmakologie	16
3.2.	Anwendung in der Veterinärmedizin.....	18
3.3.	Nebenwirkungen und Toxizität der Lokalanästhetika	20
3.4.	Ausgewählte Vertreter der Lokalanästhetika (Procain, Lidocain, Bupivacain und Mepivacain).....	22
4.	Wundheilung	23
5.	Anatomie.....	25
III.	ERWEITERTE METHODENBESCHREIBUNG	27
1.	Ziel der Untersuchung	27

2.	Versuchsdurchführung.....	27
2.1.	Versuchsbetrieb	27
2.2.	Versuchstiere, Versuchsgruppen und Studiendesign	28
2.3.	Datenerhebung.....	32
2.3.1.	Abwehrbewegungen und Vokalisation.....	32
2.3.2.	Verhalten im Hindernislauf	34
2.3.3.	Postoperative Beurteilungen/ Untersuchungen	35
2.3.3.1.	Nachbluten	35
2.3.3.2.	Wundheilung und durchschnittliche Tageszunahmen	35
3.	Statistik	35
IV.	PUBLIZIERTE STUDIENERGEBNISSE	37
1.	INTRODUCTION	39
2.	MATERIALS AND METHODS	41
2.1.	Animals and Housing.....	41
2.2.	Experimental Design	41
2.3.	Data Sampling	44
2.3.1.	Defensive Behavior	44
2.3.2.	Handling Chute Behavior	45
2.3.3.	Postoperative Assessment.....	45
2.4.	Statistical Analysis.....	46
3.	RESULTS	47
3.1.	Defensive Behavior	47
3.2.	Handling Chute Behavior	50
3.2.1.	Navigation Time	50
3.2.2.	Locomotor Activity	51
3.3.	Postoperative Assessment	52
3.3.1.	Wound Healing	52
3.3.2.	Postoperative Bleeding	52
3.3.3.	Mortality Rate and Average Daily Weight Gain.....	52
4.	DISCUSSION	53

5.	CONCLUSIONS.....	59
6.	REFERENCES	61
7.	SUPPLEMENTARY MATERIALS	67
V.	ERWEITERTE ERGEBNISSE	69
VI.	ERWEITERTE DISKUSSION	71
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	87
VIII.	SUMMARY	89
IX.	TABELLENVERZEICHNIS	91
X.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	93
XI.	LITERATURVERZEICHNIS	95
XII.	ANHANG.....	113
XIII.	DANKSAGUNG.....	115

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abs.	Absatz
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
Allg.befinden	Allgemeinbefinden
AV-Block	Atrioventrikulärer Block
AZ	Aktenzeichen
B	Bupivacain
BLE	Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
ca.	circa
Corp	Corporation
Dtl.	Deutschland
dz	Dezibel
Epin.	Epinephrin
EU	Europäische Union
FDR	False Discovery Rate
FerkBetSachkV	Ferkelbetäubungssachkundeverordnung
G	Gauge
g	Gramm
ggr.	geringgradig
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
Gr	Größe
GS	Grimace Scale
H	Handling
HEF	higher frequency of highest energy
hgr.	hochgradig
HL	Hindernislauf
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
Hum.med.	Humanmedizin
Hz	Herz
i.f.	intrafunikulär
i.m.	intramuskulär
i.t.	intratestikulär
IASP	International Association for the Study of Pain
ICC	Intraklassenkorrelationskoeffizient
Inj.	Injektion
Kastr.	Kastration
kg	Kilogramm

L	Lidocain
LA	Lokalanästhetikum
LM	Lebensmittel
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
M	Mepivacain
M.	Musculus
m ²	Quadratmeter
max.	maximal
mg	Milligramm
mgr.	mittelgradig
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid
NIH	National Institutes of Health
Nn.	Nervi
Nr.	Nummer
obB	ohne besonderen Befund
P	Procain
pK _a	negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstante K _a
RL	Richtlinie
s.c.	subkutan
STREMODO	Stressschrei-Monitor- und Dokumentationseinheit
TierSchG	Tierschutzgesetz
TUM	Technische Universität München
VO	Verordnung
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZPF	Zentrum für Präklinische Forschung
µg	Mikrogramm

I. EINLEITUNG

Im Durchschnitt wurden in Deutschland in den vergangenen 10 Jahren rund 8 Millionen Ferkel gehalten (STATISTISCHES BUNDESAMT, 2021). Der Großteil der männlichen Ferkel wird dabei innerhalb der ersten Lebenswoche chirurgisch kastriert um die Entstehung des als unangenehm empfundenen Ebergeruchs zu verhindern (CHEN, 2007) und eine konstante Fleischqualität zu gewährleisten (BARTON-GADE, 1987). Des Weiteren führt die Kastration zu einer Reduktion des sexuellen und aggressiven Verhaltens männlicher Schweine (RYDHMER et al., 2006; BÜNGER et al., 2015). Bis Ende 2020 wurde die Mehrheit der Kastrationen ohne Betäubung und lediglich unter Verabreichung eines Schmerzmittels durchgeführt (FREDRIKSEN et al., 2009). Seit dem 01. Januar 2021 ist jedoch die betäubungslose Kastration von Saugferkeln in Deutschland verboten und eine Betäubung verpflichtend (TierSchG, 2020). Aktuell stehen in Deutschland zwei Methoden für die Betäubung zur Verfügung (BMEL, 2020a). Zum einen die Injektionsnarkose mit der Wirkstoffkombination von Azaperon und Ketamin, zum anderen die Inhalationsnarkose mit Isofluran (BMEL, 2020a). Bei beiden Methoden handelt es sich um eine Allgemeinanästhesie, bei der die Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit der Ferkel ausgeschaltet wird (LÖSCHER, 2014a). Überlegenswert wäre auch eine Methode, die lokal die Schmerzempfindung ausschaltet und dadurch das Bewusstsein der Tiere nicht beeinflusst. Bisherige Studien zur Lokalanästhesie machen einen Vergleich schwierig und lassen keine validen Rückschlüsse im Hinblick auf die Sicherstellung einer wirksamen Schmerzausschaltung bei den betroffenen Tieren zu (BLE, 2017).

Als Entscheidungshilfe schrieb das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) eine wissenschaftliche Untersuchung aus, die von der Klinik für Schweine der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München in Kooperation mit dem Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung (LMU), sowie dem Zentrum für Präklinische Forschung (ZPF) der Technischen Universität München (TUM) durchgeführt wird. Die vorliegende Dissertation

beschäftigt sich mit einem Versuchsabschnitt des Projektes.

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Effekt auf die schmerzreduzierende Wirkung der intratestikulär und subskrotal verabreichten Lokalanästhetika Procain, Lidocain, Bupivacain und Mepivacain bei der Ferkelkastration zu untersuchen und miteinander zu vergleichen. Dafür wurde das Abwehrverhalten bewertet sowie Auswirkungen der Lokalanästhetika auf das Allgemeinbefinden der Ferkel erfasst.

II. ERWEITERTE LITERATURÜBERSICHT

1. Saugferkelkastration

1.1. Indikationen für die Kastration männlicher Ferkel

Männliche Ferkel werden kastriert, um die Entwicklung des als unangenehm wahrgenommenen Ebergeruchs in Schlachtkörpern zu verhindern (GUNN et al., 2004). Als Ebergeruch wird der Geruch bezeichnet, der beim Erhitzen von Fleisch oder Fett von männlichen, unkastrierten Schweinen entsteht (CHEN, 2007). Der Geruch wird häufig als fäkal- und urinartig beschrieben und macht das Schweinefleisch dadurch für den Verzehr weniger geeignet (CHEN, 2007). Die zwei hauptsächlich für diesen Geruch verantwortlichen Substanzen sind Androstenon (5α -Androst-16-en-3-on) (PATTERSON, 1968; ANDRESEN, 2006) und Skatol (VOLD, 1970; ANDRESEN, 2006). Hinsichtlich der Wahrnehmungsfähigkeit von Androstenon gibt es innerhalb der Verbraucher deutliche Unterschiede (WEILER et al., 2000; I FURNOLS et al., 2003; BLANCH et al., 2012). So zeigen die Ergebnisse von BLANCH et al. (2012), dass fast 50 % der Testpersonen Androstenon nicht wahrnehmen können, wogegen 22,7 % sehr empfindlich auf den Geruch reagieren. Insgesamt sind Frauen empfindlicher gegenüber dem Geruch von Androstenon als Männer (WEILER et al., 2000; BLANCH et al., 2012). Für Skatol ist eine solche Variabilität der menschlichen Wahrnehmung nicht beschrieben (BONNEAU und WEILER, 2019). Die meisten Verbraucher zeigen eine Abneigung gegen den Geruch von Fleisch mit hohen Skatolkonzentrationen (WEILER et al., 2000; I FURNOLS et al., 2003). DESMOULIN et al. (1982) legen in ihrer Untersuchung über die Verbraucherakzeptanz von Eberfleisch und Eberfleischprodukten Grenzwerte für Androstenonkonzentrationen im Schlachtkörperfett fest. Dabei bewerten sie Androstenonkonzentrationen > 1 Mikrogramm (μg) pro Gramm (g) Fett als genussuntauglich und Androstenonkonzentrationen $< 0,5 \mu\text{g/g}$ Fett als für den Verbraucher unauffällig (DESMOULIN et al., 1982). Für die Skatolkonzentrationen werden Grenzwerte von 0,2 bis $0,25 \mu\text{g/g}$ Fett angegeben (WALSTRA et al., 1999).

Ein weiterer Grund für die Kastration liegt in der unterschiedlichen Zusammensetzung der Schlachtkörper von Ebern und Kastraten (PAULY et al., 2012; BAUER und JUDAS, 2014). Eberschlachtkörper haben einen höheren Muskelfleischanteil (BAUER und JUDAS, 2014) und sind aufgrund ihres geringeren intramuskulären Fettgehaltes magerer (PAULY et al., 2012) als die der Kastraten. Neben dem Anteil unterscheidet sich auch die Zusammensetzung des Schlachtkörperfettes (BARTON-GADE, 1987; PAULY et al., 2012). Im Fett von Eberschlachtkörpern ist der Anteil ungesättigter Fettsäuren höher als bei Kastraten (BARTON-GADE, 1987; PAULY et al., 2012). Durch die Unterschiede hinsichtlich der Fettquantität und -qualität ist die Herstellung bestimmter Fleisch- und Wurstwaren aus Schlachtkörpern intakter Eber nur noch eingeschränkt möglich (ŠKRLEP et al., 2012; CORRAL et al., 2016).

Zudem zeigen intakte männliche Schweine ein gesteigertes Rangordnungs-, Aggressions- und Sexualverhalten gegenüber anderen Schweinen in ihrer Bucht (RYDHMER et al., 2006; THUN et al., 2006). Dieses Verhalten führt zu vermehrten Hautläsionen an den Schlachtkörpern, insbesondere an Hals, Schulter und Schinken (THUN et al., 2006; BÜNGER et al., 2015) oder auch am Penis (WEILER et al., 2016; REITER et al., 2017).

Als Alternative zur chirurgischen Kastration können die Tiere auch gegen körpereigenes Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) immunisiert werden (BMEL, 2020a). Die zweimalige Injektion des GnRH-Analogons induziert Antikörper gegen das körpereigene GnRH (DUNSHEA et al., 2001), wodurch die Hypothalamus-Hypophysen-Achse (HPA-Achse) blockiert und die Funktion der Leydig-Zellen im Hoden unterdrückt wird (EINARSSON et al., 2009). Die Immunisierung gegen das körpereigene GnRH hat einen Einfluss auf das Verhalten der Eber sowie den Geruch und die Zusammensetzung der Schlachtkörper (DUNSHEA et al., 2001; PAULY et al., 2009; RYDHMER et al., 2010). Mit Improvac® (Zoetis Deutschland GmbH, Berlin) steht in Europa ein Präparat zur Immunisierung gegen GnRH zur Verfügung.

1.2. Gesetzliche Grundlagen

Die Kastration von Saugferkeln wird in der europäischen Richtlinie 2008/120/EG des Rates vom 18. Dezember 2008 über Mindestanforderungen für den Schutz von Schweinen (RL2008/120/EG) geregelt und in Deutschland durch das Tierschutzgesetz (TierSchG) (TierSchG, 2020) in nationales Recht umgewandelt. Laut § 6 Abs. 1 Satz 1 TierSchG (2020) ist das vollständige oder teilweise Amputieren von Körperteilen oder das vollständige oder teilweise Entnehmen oder Zerstören von Organen oder Geweben eines Wirbeltieres verboten. Eine Ausnahme stellt unter anderem die Kastration unter acht Tage alter männlicher Schweine dar (§ 6 Abs. 1 Satz 1 Nr. 2a TierSchG (2020)). Für mit Schmerzen verbundene Eingriffe an Wirbeltieren besteht laut § 5 TierSchG (2020) eine Betäubungspflicht, wobei Eingriffe die von der Betäubungspflicht ausgenommen sind, in den Absätzen 2 und 3 des § 5 definiert werden (TierSchG, 2020). Ist eine Betäubung erforderlich, muss diese grundsätzlich von einem Tierarzt durchgeführt werden (§ 5 Abs. 1 Satz 2 TierSchG (2020)). Für diese sieht das TierSchG (2020) bei der Kastration unter acht Tage alter Schweine eine Ausnahme vor, soweit die Betäubung ohne Beeinträchtigung des Zustandes der Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit, ausgenommen der Schmerzempfindung, durch ein Tierarzneimittel erfolgt, das nach arzneimittelrechtlichen Vorschriften für die Schmerzausschaltung für diesen Eingriff zugelassen ist (§ 5 Abs. 1 Satz 4 TierSchG (2020)). Da zum jetzigen Zeitpunkt in Deutschland kein Arzneimittel entsprechend § 5 Abs. 1 Satz 4 TierSchG (2020) zur Verfügung steht, bleiben als Betäubungsverfahren der chirurgischen Ferkelkastration die Injektionsnarkose mit Ketamin und Azaperon oder die Inhalationsnarkose mit Isofluran (BMEL, 2020b). Die Inhalationsnarkose mit Isofluran durfte bis Anfang 2020 gemäß § 5 Abs. 1 Satz 2 TierSchG (2020) nur von einem Tierarzt durchgeführt werden. Durch den Erlass der Ferkelbetäubungssachkundeverordnung (FerkBetSachkV) (FerkBetSachkV, 2020) vom 08.01.2020, wird es sachkundigen Personen ermöglicht die Inhalationsnarkose mit Isofluran selbst durchzuführen (BMEL, 2020b). Die Durchführung der Injektionsnarkose bleibt weiterhin nur dem Tierarzt vorbehalten (TierSchG, 2020).

1.3. Durchführung der chirurgischen Kastration von Saugferkeln

Für die Kastration werden die männlichen Saugferkel auf dem Rücken liegend (SCHNURRBUSCH, 2006; BUER et al., 2016) zwischen den Knien oder in speziellen Fixationsvorrichtungen fixiert (PLONAIT, 2004). Nach Prüfung der normalanatomischen Lage der Hoden wird das Skrotum mit einer Desinfektionslösung besprüht und mit Zellstoff gereinigt (PLONAIT, 2004). Anschließend werden die Hoden nach kaudal gedrückt und mit zwei Schnitten parallel zur *Raphe scroti*, durch das Skrotum und den *Processus vaginalis*, bis ins Hodengewebe freigelegt (unbedeckte Kastration) (SCHNURRBUSCH, 2006). Alternativ kann ein medianer Schnitt gesetzt werden (PLONAIT, 2004). Danach wird der Hoden vorgelagert und auf Höhe des Samenstrangs mit einem Emaskulator (PLONAIT, 2004) (SCHNURRBUSCH, 2006) oder einem Skalpell (PLONAIT, 2004) abgesetzt. Die Hautwunden bleiben offen und werden mit lokalen Antiseptika versorgt (SCHNURRBUSCH, 2006). Die Kastration in der ersten Lebenswoche birgt den Vorteil, dass die Operationswunden kleiner sind, schneller heilen und somit weniger Wundinfektionen mit Abszessen oder Fistelbildungen auftreten (LACKNER et al., 2002; PLONAIT, 2004).

1.4. Verfahren zur Betäubung der chirurgischen Kastration

1.4.1. Injektionsanästhesie

Für die Injektionsanästhesie beim Schwein steht derzeit in Deutschland arzneimittelrechtlich nur die Kombination der Wirkstoffe Azaperon und Ketamin zur Verfügung (VETIDATA, 2020). Der Wirkstoff Azaperon gehört zu den Neuroleptika und wird beim Schwein als Sedativum eingesetzt (AMMER und POTSCHKA, 2016). Die sedative Wirkung tritt nach intramuskulärer (i.m.) Applikation nach circa fünf bis zehn Minuten ein und hält bis zu drei Stunden an (AMMER und POTSCHKA, 2016). In Kombination mit Ketamin kann Azaperon in einer Dosierung von ein bis zwei Milligramm pro Kilogramm (mg/kg) beim Schwein zur Allgemeinanästhesie verwendet werden (VETIDATA, 2020). Ketamin ist beim Schwein nur in Kombination mit Sedativa, weiteren Analgetika oder Inhalations- oder Injektionsnarkotika anzuwenden (VETIDATA, 2020). Ketamin zählt zu den Injektionsanästhetika und induziert den Zustand der

dissoziativen Anästhesie (AMMER und POTSCHKA, 2016). Diese ist durch eine potente Analgesie vorwiegend somatischer Schmerzen, einen oberflächlichen Schlaf sowie Katalepsie gekennzeichnet (AMMER und POTSCHKA, 2016). Beim Schwein beträgt die Dosierung von Ketamin 10 bis 25 mg/kg intramuskulär (LAHRMANN et al., 2006; EMMERICH et al., 2014). Bei der Injektionsnarkose sollte die lange Nachschlafphase (BALDINGER et al., 2017b) von bis zu vier Stunden (KMIEC, 2005) und die daraus resultierende erhöhte Gefahr von Ferkelverlusten durch Erdrücken (BALDINGER et al., 2017a) und Unterkühlung (KMIEC, 2005) berücksichtigt werden.

1.4.2. Inhalationsanästhesie

Zur Allgemeinanästhesie für die Kastration von männlichen Saugferkeln bis zum siebten Lebenstag ist das Inhalationsnarkotikum Isofluran (Isofluran Baxter vet 1000 mg/g, WDT, Garbsen, Deutschland) in Deutschland zugelassen (VETIDATA, 2020). Isofluran induziert neben einer guten Hypnose eine gute Muskelrelaxation, jedoch ist die analgetische Wirkung nur schwach ausgeprägt, weshalb bei der Kastration zusätzlich ein Schmerzmittel verabreicht werden sollte (AMMER und POTSCHKA, 2016). Vorteil der Inhalationsanästhesie gegenüber der Injektionsanästhesie liegt in der Dauer der Nachschlafphase. Die Metabolisierungsrate von Isofluran ist sehr gering ($< 0,2\%$) und es wird rasch über die Lunge eliminiert (AMMER und POTSCHKA, 2016), was sich in einer Nachschlafphase von nur wenigen Minuten zeigt (WALKER et al., 2004; ENZ et al., 2013b). Des Weiteren dürfen seit Januar 2020 durch den Erlass der FerkBetSachkV andere sachkundige Personen als Tierärztinnen und Tierärzte die Betäubung mittels Isofluran von unter acht Tage alten Ferkeln zum Zwecke der Kastration durchführen (FerkBetSachkV, 2020). Dies ermöglicht es dem Landwirt die Kastration selbständig, nach entsprechender Schulung und ohne den Tierarzt, durchzuführen (FerkBetSachkV, 2020).

1.4.3. Lokalanästhesie

Indem Lokalanästhetika lokal in die Umgebung von Nervenfasern appliziert werden (RICHTER, 2016) kommt es zu einer örtlich begrenzten reversiblen Schmerzausschaltung (FREITAG, 2011). Bei der Kastration sollten neben den Nervenfasern, welche Hodenhüllen (Haut) inklusive *Musculus (M.) cremaster* innervieren auch die Samenstränge ausreichend mit Lokalanästhetikum infiltriert sein, um die entsprechenden Strukturen zu betäuben (WALDMANN et al., 2018). Bei den bisher beschriebenen lokalen Anästhesieverfahren bei der Kastration von Saugferkeln wird ein Lokalanästhetikum in den Hoden (intratestikulär), in den Samenstrang (intrafunikulär) und/oder unter die Haut (subkutan) im Skrotalbereich appliziert (LEIDIG et al., 2009; HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012; BONASTRE et al., 2016; PEREZ-PEDRAZA et al., 2018; RAUH et al., 2019). Die durchgeführten Studien fokussieren sich dabei besonders auf die Lokalanästhetika Procain und Lidocain, wobei auch Untersuchungen zu Tetracain, Hostacain und Bupivacain durchgeführt wurden (WALDMANN et al., 1994; BONASTRE et al., 2016; GOTTARDO et al., 2016). Untersuchungen, ob die Lokalanästhesie als Methode zur Betäubung der Kastration von Saugferkeln geeignet ist, lieferten unterschiedliche Ergebnisse mit Hinweisen auf eine unzureichende Schmerzausschaltung (LEIDIG et al., 2009; KLUIVERS-POODT et al., 2012; RAUH et al., 2019). Laut WALDMANN et al. (2018) sind die Ergebnisse der Untersuchungen im Hinblick auf die unterschiedlichen Wirkstoffe, die verschiedenen Applikationsweisen und der schwer objektivierbaren Evaluation von Schmerz sehr heterogen und kaum vergleichbar (WALDMANN et al., 2018). In Norwegen, Schweden und Dänemark wird die Saugferkelkastration unter Lokalanästhesie bereits routinemäßig durchgeführt (DE BRIYNE et al., 2016; SKADE et al., 2021). In Schweden und Norwegen wird Lidocain (DE BRIYNE et al., 2016), in Dänemark Procain (SKADE et al., 2021) verwendet. In Schweden und Dänemark kann die Applikation des Lokalanästhetikums von Landwirten, nach entsprechender Schulung, selbst durchgeführt werden (DE BRIYNE et al., 2016; SKADE et al., 2021).

2. Schmerz

2.1. Definition

Die International Association for the Study of Pain (IASP) definiert Schmerz als eine unangenehme sensorische und emotionale Erfahrung, die mit einer tatsächlichen oder potenziellen Gewebeschädigung verbunden ist oder dieser ähnelt (RAJA et al., 2020). Die Empfindungen von Tieren kann man nicht erfragen (BREER et al., 2015), jedoch verneint die Unfähigkeit Schmerz verbal zu kommunizieren nicht die Möglichkeit, dass ein Individuum Schmerz erlebt (RAJA et al., 2020). In der Veterinärmedizin sind die artspezifischen Unterschiede im Schmerzverhalten zu berücksichtigen, weil verschiedene Tierarten Schmerzen in unterschiedlich starkem Maße zeigen (BREER et al., 2015). Generell zeigen Raubtiere stärkere Reaktionen auf Noxen als Beutetiere (BREER et al., 2015). BREER et al. (2015) definierten den Schmerz bei Tieren als eine aversive sensorische Erfahrung, die durch aktuelle oder potentielle Verletzungen verursacht wird, protektive motorische oder vegetative Reaktionen auslöst, zur elementaren Vermeidung solcher Reize führt und somit das Verhalten modifiziert (BREER et al., 2015). Demnach versteht man unter dem Begriff Schmerz sowohl die objektive als auch die subjektive Erfassung schmerzauslösender Reize (PFANNKUCHE, 2008).

2.2. Nozizeption

Im Gegensatz zu Schmerz bezieht sich die Nozizeption nur auf die objektive Erfassung schmerzauslösender Reize (PFANNKUCHE, 2008). Unter dem Begriff Nozizeption versteht man die Erkennung, Weiterleitung und Verarbeitung noxischer (schmerzauslösender) Reize im peripheren und zentralen Nervensystem (BREER et al., 2015). Das heißt, Nozizeption ist Schmerz ohne die emotionale, subjektive Komponente. Das nozizeptive System von Wirbeltieren ist prinzipiell wie das des Menschen (PFANNKUCHE, 2008). Dementsprechend empfinden Wirbeltiere ebenso Schmerzen wie Menschen (LE BARS et al., 2001).

2.3. Ausgewählte Methoden zur Schmerzbeurteilung bei der Kastration von Saugferkeln

In der Humanmedizin gilt die Selbstauskunft, als direkte Methode der Schmerzmessung, als Goldstandard (CRAIG, 2009; NATIONAL CANCER INSTITUT (NIH), 2021). Da diese Ermittlung von Schmerzen bei Tieren nicht möglich ist, muss in der Tiermedizin auf indirekte Methoden zur Beurteilung von Schmerzen zurückgegriffen werden (LE BARS et al., 2001). Die indirekte Beurteilung kann durch die Messung der Änderung physiologischer Parameter (WHITE et al., 1995; PRUNIER et al., 2005; ZÖLS et al., 2006a; MARCHANT-FORDE et al., 2009; HOFMANN et al., 2019; RAUH et al., 2019; SALLER et al., 2020) oder des Verhaltens (WALKER et al., 2004; LEIDIG et al., 2009; MARCHANT-FORDE et al., 2009; HANSSON et al., 2011; RAUH et al., 2019; SHEIL et al., 2020) der Tiere erfolgen. Die Schwierigkeit dabei liegt insbesondere in der Unterscheidung zwischen schmerzspezifischen und stressassoziierten Änderungen. Deshalb ist eine Kombination aus der Erfassung verschiedener Parameter zu empfehlen.

2.3.1. Physiologische Parameter

Durch Schmerz und Stress kommt es zur Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) und des sympathischen Nervensystems (BREER et al., 2015). Die Aktivierung der HPA-Achse führt zur Ausschüttung des Adrenocorticotropen Hormones (ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen (MEINECKE und HUBER, 2015). Neben ACTH wird β -Endorphin ebenfalls von der Hypophyse infolge von Schmerz und Stress freigesetzt (MEINECKE und HUBER, 2015). β -Endorphin wirkt als „Schmerzblocker“, da es die Opiatrezeptoren besetzt und so in gewisser Weise als Opiat-Analogon fungiert (MEINECKE und HUBER, 2015). Die Hauptwirkung von ACTH liegt in der Aktivierung der Corticosteroidsynthese sowie deren Sekretion aus der Nebennierenrinde (MEINECKE und HUBER, 2015). Die Aktivierung des sympathischen Nervensystems führt zudem ebenso zur Stimulation der Nebenniere, welche daraufhin mit einer Ausschüttung von Adrenalin aus dem Nebennierenmark reagiert (MEINECKE und HUBER, 2015). Adrenalin verursacht unter anderem eine Erhöhung der Herzfrequenz

(BREVES, 2015) und des Blutdrucks (VON ENGELHARDT, 2015). Sowohl die Blutparameter ACTH, Cortisol, Adrenalin und β -Endorphin, als auch der Anstieg von Herzfrequenz und Blutdruck werden häufig eingesetzt um Schmerzen bei der Kastration von Saugferkeln indirekt zu messen (WHITE et al., 1995; PRUNIER et al., 2005; ZÖLS et al., 2006a; MARCHANT-FORDE et al., 2009; HOFMANN et al., 2019; RAUH et al., 2019; SALLER et al., 2020). Entscheidend für die Interpretation dieser physiologischen Parameter ist, dass diese nicht schmerzspezifisch sind, da sie durch Stress beeinflusst werden (KEHLET, 1989). Des Weiteren lassen die Ergebnisse von LYKKEGAARD et al. (2005) vermuten, dass ebenso eine Gewebeschädigung zu einem Anstieg von ACTH und Cortisol im Blut führen kann, wenngleich die Tiere anästhesiert sind.

2.3.2. Abwehrverhalten

Neben den physiologischen Parametern wird das Abwehrverhalten der Ferkel häufig verwendet um Rückschlüsse auf mögliche Schmerzen ziehen zu können. Um akute Schmerzen beispielsweise während eines Eingriffes zu messen, eignen sich vor allem Abwehrbewegungen und Lautäußerungen der Ferkel (WALKER et al., 2004; LEIDIG et al., 2009; MARCHANT-FORDE et al., 2009; HANSSON et al., 2011; RAUH et al., 2019; SHEIL et al., 2020).

2.3.2.1. Abwehrbewegungen

Zur Beurteilung von Abwehrbewegungen der Ferkel während der Kastration finden unterschiedliche Skalen Anwendung. HANSSON et al. (2011) verwenden in ihrer Studie eine visuelle Analogskala (1-4), bei der eine Markierung, die sich näher am linken Ende der Linie befindet "geringen" Abwehrbewegungen und eine Markierung, die sich näher am rechten Ende befindet "starken" Abwehrbewegungen entspricht (HANSSON et al., 2011). Numerische Skalen können ebenfalls zur Messung von Abwehrbewegungen herangezogen werden (WALKER et al., 2004; LEIDIG et al., 2009; RAUH et al., 2019; SHEIL et al., 2020). SHEIL et al. (2020) bewerten die Abwehrbewegungen beim Zug am Hoden und die anschließende Samenstrangdurchtrennung mit einer einfachen numerischen Skala von 0 bis 2 für jeweils jeden der beiden Schritte.

WALKER et al. (2004) verwenden ebenfalls eine numerische Skala, allerdings handelt es sich hierbei um einen kombinierten Score aus Abwehrbewegungen und Vokalisation der Ferkel. LEIDIG et al. (2009) und RAUH et al. (2019) erweitern die numerische Skala durch eine Differenzierung der Abwehrbewegungen in Dauer und Intensität. Unabhängig von der verwendeten Skala zur Erfassung der Abwehrbewegungen reagieren in allen Untersuchungen betäubungslos kastrierte Ferkel mit den stärksten Abwehrbewegungen auf die Kastration im Vergleich zu gehandelten (RAUH et al., 2019; SALLER et al., 2020) oder unter Anästhesie kastrierten Ferkel (WALKER et al., 2004; LEIDIG et al., 2009; HANSSON et al., 2011; RAUH et al., 2019; SALLER et al., 2020; SHEIL et al., 2020). Des Weiteren zeigen die Ergebnisse der Scores von LEIDIG et al. (2009), HANSSON et al. (2011), RAUH et al. (2019) und SALLER et al. (2020) eine Reduktion der Abwehrbewegungen bei unter Lokalanästhesie kastrierten Ferkeln. Ein Nachteil der Erfassung der Abwehrbewegungen liegt darin, dass es durch die Anwendung der verschiedenen Scores und visuellen Analogskalen zu einem Informationsverlust im Vergleich zu skalierten Daten kommt. Außerdem handelt es sich hierbei, je nachdem welche Skala oder welcher Score verwendet wird, um eine schwer objektivierbare Methode.

2.3.2.2. Vokalisation

Zahlreiche Studien legen nahe, dass die Bewertung der Vokalisation von Saugferkeln als Indikator für akute Schmerzen während der Kastration geeignet ist (WHITE et al., 1995; WEARY et al., 1998; TAYLOR und WEARY, 2000; MARX et al., 2003; PUPPE et al., 2005; SCHÖN et al., 2006; LEIDIG et al., 2009; MARCHANT-FORDE et al., 2009; HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012; SUTHERLAND, 2015; SHEIL et al., 2020). Bereits WHITE et al. (1995) können in ihrer Studie signifikante Unterschiede in der Vokalisation von betäubungslos kastrierten Schweinen zu Schweinen, welche unter Einsatz eines Lokalanästhetikums (Lidocain) kastriert wurden, feststellen. Sie analysieren die Laute der Ferkel anhand der Frequenz mit der höchsten Energie in Dezibel (higher frequency of highest energy (HEF)) (WHITE et al., 1995). In der Studie von WEARY et al. (1998) erzeugen betäubungslos kastrierte Ferkel signifikant mehr

hochfrequente Laute (> 1000 Herz (Hz)) als scheinkastrierte Ferkel. Sie kommen in ihrer Studie zu dem Schluss, dass die Anzahl der hochfrequenten Laute (> 1000 Hz) ein zuverlässiger Indikator für die bei der Kastration verursachten Schmerzen ist (WEARY et al., 1998). Dies deckt sich mit den Ergebnissen von TAYLOR et al. (2001), bei denen betäubungslos kastrierte Ferkel mehr als dreimal so viel hochfrequente Laute produzieren als nur gehandelte Tiere. Basierend auf der Analyse der hochfrequenten Laute werden auch Unterschiede im Verlauf der Kastration und der einzelnen Schritte beobachtet (TAYLOR und WEARY, 2000). Aus den Ergebnissen schlussfolgern TAYLOR und WEARY (2000), dass das Ziehen am und die Durchtrennung des Samenstranges die schmerzhaftesten Komponenten der Kastration darstellen. Mit Hilfe einer multiparametrischen Lautanalyse unterscheiden MARX et al. (2003) die Schreie der Ferkel während der Kastration in drei Lauttypen: Grunzen, Quietschen und Schreien. Der Vergleich des Auftretens dieser drei Lauttypen weist auf eine schmerzbezogene Verwendung der Laute hin (MARX et al., 2003). Betäubungslos kastrierte Ferkel produzieren nahezu doppelt so viele Schreie wie Ferkel, welche unter Lokalanästhesie kastriert wurden (MARX et al., 2003). Außerdem kommen MARX et al. (2003) zu dem Schluss, dass Parameter, die Einzelereignisse in einem Laut beschreiben, wie die maximale Frequenz oder der Maximalpegel, bessere Ergebnisse liefern als Parameter die einen Mittelwert beschreiben. HANSSON et al. (2011) zeichnen mit einem Schallpegelmesser (Dezibel Meter) den Laut mit dem höchsten Intensitätslevel während der Kastration auf, dabei produzieren Ferkel, welche unter Verwendung des Lokalanästhetikums Lidocain kastriert wurden, Schreie mit geringerer Intensität als betäubungslos kastrierte Ferkel (HANSSON et al., 2011). SHEIL et al. (2020) können in ihrer Studie zu Tri-Solfen®, einem topischen Lokalanästhetikum, allerdings auch mit dem Parameter „Fläche unter der Dezibel / Zeit Kurve“, eine signifikante Reduktion der Vokalisation bei Ferkeln, beobachten. Um die Analyse von Ferkelschreien während der Kastration zu erleichtern, verwenden einige Autoren das akustische Analysesystem STREMODO (STRessschrei-MONitor und DOKumentationseinheit) (PUPPE et al., 2005; SCHÖN et al., 2006; LEIDIG et al., 2009; SUTHERLAND, 2015). Hierbei handelt sich um ein

automatisches System, welches basierend auf 12 komplexen Lautparametern, selektiv auf Stressvokalisationen anspricht und ihre Anzahl pro Zeiteinheit erfasst und aufzeichnet (MANTEUFFEL und SCHÖN, 2004). MANTEUFFEL und SCHÖN (2004) entwickelten dieses Verfahren ursprünglich zur kontinuierlichen Erfassung der Stressbelastung von Schweinen bei Haltung und Transport, allerdings kann es auch zur Analyse von schmerzbedingten Lauten während der Kastration eingesetzt werden (PUPPE et al., 2005; SCHÖN et al., 2006; LEIDIG et al., 2009; SUTHERLAND et al., 2010; KLUIVERS-POODT et al., 2012). KLUIVERS-POODT et al. (2012) und SCHWENNEN et al. (2020) verwenden in ihren Untersuchungen ebenfalls ein Programm zur Analyse der Vokalisation (Avisoft Bioacustics). KLUIVERS-POODT et al. (2012) schlussfolgern anhand ihrer Analyse der Vokalisation mit Avisoft, dass betäubungslos kastrierte Ferkel länger, lauter und höher schreien. Voraussetzung um zuverlässige Aufnahmen zu erhalten, ist es Hintergrundgeräusche bestmöglich zu reduzieren. Deshalb wird in den meisten Studien ein separater Raum als Versuchskammer verwendet (WHITE et al., 1995; WEARY et al., 1998; TAYLOR und WEARY, 2000; TAYLOR et al., 2001; PUPPE et al., 2005; SCHÖN et al., 2006) oder zumindest ein Bereich außerhalb des Abferkelstalles, zum Beispiel im Stallgang (LEIDIG et al., 2009; MARCHANT-FORDE et al., 2009), aufgesucht. MARX et al. (2003) arbeiten hingegen mit zwei Mikrofonen, wobei ein Mikrofon nah an der Rüsselscheibe und das zweite weiter entfernt im Raum platziert werden. Die Aufnahmen beider Mikrofone werden überlappend ausgewertet, um Hintergrundgeräusche erkennen und filtern zu können (MARX et al., 2003). Diese Form der Datenerhebung ist sehr aufwendig und erfordert spezielle bauliche Gegebenheiten, weshalb die Lautanalyse nicht in jedem Studiendesign verwendet werden kann. SHEIL et al. (2020) ließen die Aufnahmen ihrer Untersuchung von einem spezialisierten Klanggutachter (sound consultant) auswerten. Die Herausforderung bei der Analyse von Ferkellauten ist folglich, Aufnahmen zu generieren, welche geeignet sind zuverlässige Unterschiede bezüglich der Lautparameter darzustellen. Dies ist mit einem großen apparativen und zeitlichen Aufwand verbunden und kann deshalb nur in wenigen Studiendesigns realisiert werden.

2.3.3. Verhalten im Hindernislauf

Ein neuartiger Ansatz kastrationsbedingte Schmerzen zu messen, liegt in der Beurteilung der Bewegungsaktivität der Tiere. CURRAH et al. (2009) bestimmen in ihrer Studie die Schrittlänge und die Anzahl der Schritte von betäubungslos und epidural anästhesierten Kälbern nach der Kastration. Dabei stellen sie fest, dass die betäubungslose Kastration zu einer signifikanten Reduktion der Schritte der Kälber führt (CURRAH et al., 2009). Neben der veränderten Anzahl der Schritte beobachten CURRAH et al. (2009) auch einen Effekt auf die Schrittlänge der Kälber. Diese verkürzt sich, unabhängig von der Behandlung mit Lokalanästhetika oder Analgetika, nach der Kastration (CURRAH et al., 2009). Die Ergebnisse von CURRAH et al. (2009) deuten darauf hin, dass sowohl die Anzahl der Schritte als auch die Schrittlänge ein gutes Maß zur Beurteilung der Schmerzen nach der Kastration von Kälbern sein können. Einen ähnlichen Ansatz verfolgen BILSBORROW et al. (2016). Sie evaluierten, ob eine neuartige Verhaltensbeobachtung unter Verwendung eines Hindernislaufes, als objektive Methode zur Beurteilung von Schmerzen bei Ferkeln nach der Kastration geeignet ist (BILSBORROW et al., 2016). Dazu bestimmten sie Navigationszeit und Schrittlänge der Ferkel im Hindernislauf zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Kastration (BILSBORROW et al., 2016). Hinsichtlich der Navigationszeit benötigten betäubungslos kastrierte Ferkel direkt nach der Kastration sowie 15 min später signifikant länger um die Hürden zu passieren als scheinkastrierte Ferkel (BILSBORROW et al., 2016). Zu späteren Zeitpunkten wurden keine signifikanten Unterschiede in den Navigationszeiten beobachtet (BILSBORROW et al., 2016). Die Messung der Schrittlänge ergibt in der Studie von BILSBORROW et al. (2016) zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen DAVIS et al. (2017) und RAUH et al. (2019). Auch sie messen signifikant längere Navigationszeiten bei betäubungslos kastrierten Ferkeln im Vergleich zu gehandelten und unter Lokalanästhesie kastrierten Ferkeln (DAVIS et al., 2017; RAUH et al., 2019). Ergänzend zu den Studien von DAVIS et al. (2017) und BILSBORROW et al. (2016) verwenden RAUH et al. (2019) den Hindernislauf zudem zur Beurteilung der Schmerzen von Saugferkeln,

verursacht durch die Injektion eines Lokalanästhetikums in oder um den Hoden. Im Zuge der Messung der Navigationszeiten nach der Injektion von Procain, beobachten RAUH et al. (2019) zusätzlich Laufauffälligkeiten, in Form von Stolpern oder Stürzen.

3. Lokalanästhetika

3.1. Pharmakologie

Die Wirkung von Lokalanästhetika beruht auf einer örtlich begrenzten reversiblen Schmerzausschaltung (FREITAG, 2011). Durch deren Bindung an spannungsabhängige Natrium-Kanäle kommt es zu einer Blockade des Natrium-Ionen-Einstroms in die Zelle (RICHTER, 2016). Aufgrund des fehlenden Einstromes findet keine Depolarisation an der Nervenmembran statt, infolgedessen wird die Weiterleitung von Aktionspotentialen unterdrückt (RICHTER, 2016). Diese blockierende Wirkung von Lokalanästhetika ist an dünnen (unmyelinisierten) Nervenfasern stärker als an dicken (myelinisierten), deshalb fallen die nervalen Modalitäten in folgender Reihenfolge aus: Schmerz-, Temperatur-, Berührungs- und Druckempfinden (RICHTER, 2016). Lässt die Wirkung der Lokalanästhetika nach, kehren die nervalen Modalitäten in umgekehrter Reihenfolge wieder zurück (RICHTER, 2016). In sehr hohen Lokalanästhetika-Konzentrationen kommt es an den Nervenfasern zu einer Hemmung der motorischen Fasern (RICHTER, 2016). Zudem sind auch postganglionäre sympathische Fasern gegenüber Lokalanästhetika empfindlich (RICHTER, 2016). Ihre Blockade führt zu einer Verminderung der Vasokonstriktion (RICHTER, 2016), wodurch sich die Durchblutung im entsprechenden Gewebe erhöht (TACKE et al., 2011).

Gemäß ihrer chemischen Struktur werden Lokalanästhetika in zwei Gruppen unterteilt: Lokalanästhetika vom Ester- (Aminoester) und vom Amidtyp (Aminoamide) (ZINK und GRAF, 2011; RICHTER, 2016). Gemeinsam sind Beiden die lipophile, aromatische Gruppe, die Zwischenkette und die hydrophile Aminogruppe (ZINK und GRAF, 2011; RICHTER, 2016). Lediglich die Bindung der aromatischen Gruppe an die Zwischenkette unterscheidet sich. Bei den Lokalanästhetika vom Estertyp (zum Beispiel (z.B.) Procain) besteht zwischen der aromatischen Gruppe

und der Zwischenkette eine Esterbindung, während bei den Lokalanästhetika vom Amidtyp (z. B. Lidocain, Bupivacain und Mepivacain) diese über eine Amidgruppe verbunden sind (ZINK und GRAF, 2011; RICHTER, 2016). Diese Unterscheidung ist von Bedeutung, da die Wirkdauer dadurch maßgeblich beeinflusst wird (RICHTER, 2016). Lokalanästhetika vom Estertyp werden schon am Applikationsort von Esterasen, die ubiquitär im Gewebe und Plasma vorkommen, rasch hydrolysiert und folglich inaktiviert (RICHTER, 2016). Dahingegen werden Lokalanästhetika vom Amidtyp erst in die Leber transportiert um dort mithilfe von Monooxygenasen und Carboxylesterasen metabolisiert zu werden (RICHTER, 2016). Dadurch sind Lokalanästhetika vom Amidtyp länger wirksam (RICHTER, 2016). Des Weiteren hat die Zwischenkette einen Einfluss auf die analgetische Potenz der Lokalanästhetika (ZINK und GRAF, 2011). Je mehr Kohlenstoffatome in der Zwischenkette enthalten sind, desto analgetisch potenter ist das Lokalanästhetikum (ZINK und GRAF, 2011).

Lokalanästhetika sind schwach basische Amine und deshalb nur als saure Salze wasserlöslich (RICHTER, 2016). Aufgrund dessen müssen Injektionslösungen einen leicht sauren pH-Wert zwischen vier und sechs aufweisen (RICHTER, 2016). Der pK_a -Wert (negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstante K_a) beschreibt den pH-Wert einer wässrigen Lösung, bei dem die Hälfte der Substanz, in dem Fall des Lokalanästhetikums, als ungeladene Base und die andere Hälfte als protonierte Säure vorliegen (ZINK und GRAF, 2011). Je höher der spezifische pK_a -Wert des Lokalanästhetikums, desto kleiner ist der unter physiologischen Bedingungen vorliegende Anteil freier Basen (ZINK und GRAF, 2011). In sauren Injektionslösungen liegen die Lokalanästhetika ionisiert vor (RICHTER, 2016). Nach Injektion ins Gewebe (pH 7,4) liegen diese je nach pK_a -Wert nur noch zu drei bis 20 Prozent in unionisierter Form vor (RICHTER, 2016). Der pK_a -Wert ist von großer Bedeutung, da nur die unionisierte Form (lipophil) mittels Diffusion durch die Membran an die Bindungsstelle am Natrium-Kanal gelangt (RICHTER, 2016). Um anschließend an die Bindungsstelle binden zu können müssen sie wieder in die ionisierte (protonierte) Form übergehen (RICHTER, 2016).

Einen weiteren Einfluss auf die Diffusion der Lokalanästhetika hat deren Lipophilie (RICHTER, 2016). Je lipophiler eine Substanz ist, desto größer ist deren Verteilungskoeffizient und desto besser kann diese an ihren Wirkort diffundieren (RICHTER, 2016). Die Lipidlöslichkeit korreliert demnach mit der analgetischen Potenz aber auch mit der systemischen Toxizität (ZINK und GRAF, 2011). Ebenfalls entscheidend für die Diffusion sind die Proteinbindung der Lokalanästhetika und der Konzentrationsgradient am Wirkort (RICHTER, 2016).

Neben den bereits erläuterten Unterschieden zwischen Lokalanästhetika vom Amid- und Estertyp, hat zusätzlich der Durchblutungsgrad des Gewebes einen weiteren Einfluss auf die Wirkdauer (RICHTER, 2016). Durch die Hemmung der Vasokonstriktion durch das Lokalanästhetikum wird die Durchblutung im Gewebe gesteigert, was einen schnelleren Abtransport und eine verkürzte Wirkdauer zur Folge hat (RICHTER, 2016). Aus diesem Grund werden den Injektionslösungen häufig Adrenalin oder Noradrenalin als Sperrkörper zugesetzt (RICHTER, 2016). Diese führen zu einer Vasokonstriktion (RICHTER, 2016) und haben den Vorteil, dass der Abtransport verzögert, die Wirkdauer somit um das Zwei- bis Dreifache verlängert und das Risiko systemischer Nebenwirkungen vermindert wird (TACKE et al., 2011; RICHTER, 2016). Ein weiterer positiver Effekt ist, die durch die Vasokonstriktion verminderte lokale Blutungsneigung (RICHTER, 2016). Durch die verminderte Durchblutung kann es jedoch leichter zu einer Infektion kommen (RICHTER, 2016). Sperrkörper sollten zudem auf keinen Fall in Endstromgebieten wie Akren eingesetzt werden, da hier aufgrund der Minderdurchblutung leichter Nekrosen entstehen können (RICHTER, 2016).

3.2. Anwendung in der Veterinärmedizin

Lokalanästhetika finden in verschiedenen Bereichen der Veterinärmedizin Anwendung. Primär werden sie zur Schmerzausschaltung bei chirurgischen Eingriffen verwendet (RICHTER, 2016). Außerdem spielen sie eine wichtige Rolle bei der Lahmheitsdiagnostik (RICHTER, 2016). In Kombination mit anderen Stoffen können sie zur Linderung von Juckreiz und Schmerzen topisch angewendet werden (RICHTER, 2016). Lokalanästhetika, insbesondere Lidocain, werden zudem auch intravenös

zur Behandlung von Herzrhythmusstörungen eingesetzt (RICHTER, 2016). Für die klinische Anwendung werden verschiedene Techniken der Lokalanästhesie unterschieden: Oberflächen-, Infiltrations-, Leitungs-, Epidural- und intravenöse Regionalanästhesie (TACKE et al., 2011). Unter Oberflächenanästhesie wird die Betäubung von Schleimhautoberflächen und der Kornea verstanden (TACKE et al., 2011). Darüber hinaus stellt auch die intraartikuläre Injektion von Lokalanästhetika eine Form der Oberflächenanästhesie dar (TACKE et al., 2011). Bei der Infiltrationsanästhesie wird das Lokalanästhetikum intra- oder subkutan (extravaskulär) in das Operationsgebiet appliziert (TACKE et al., 2011; RICHTER, 2016). Von dort diffundiert es zu den Nervenfasern und Nervenendigungen in der Umgebung (RICHTER, 2016). Bei dieser Form der Anwendung wird eine relativ große Menge Lokalanästhetikum benötigt, was die Gefahr der systemischen Wirkung erhöht und somit den Einsatz von Sperrkörpern sinnvoll macht (RICHTER, 2016). Zur Leitungsanästhesie erfolgt eine perineurale Injektion, das heißt das Lokalanästhetikum wird in die unmittelbare Umgebung eines größeren Nerven appliziert, der das Operationsgebiet innerviert (RICHTER, 2016). Hierbei wird eine geringere Menge Lokalanästhetikum benötigt, woraus sich ein geringeres Risiko für systemische Wirkungen ergibt (RICHTER, 2016). Darüber hinaus wird das Gewebe im Operationsgebiet nicht durch die Lokalanästhetika beeinflusst (RICHTER, 2016). Die Epiduralanästhesie zählt zur Leitungsanästhesie (RICHTER, 2016). Dabei kommt es durch Injektion eines Lokalanästhetikums in den Epiduralraum zu einer vorübergehenden Unterbrechung der Erregungsleitung in diesem Bereich des Wirbelkanals (TACKE et al., 2011). Für kürzere Operationen an den Extremitäten, vor allem bei Wiederkäuern, kann die intravenöse Regionalanästhesie genutzt werden (TACKE et al., 2011; RICHTER, 2016). Bei dieser Technik wird eine Blutsperre mit Hilfe einer Manschette proximal des Operationsgebietes erzeugt (RICHTER, 2016). Das Lokalanästhetikum wird anschließend distal, in eine, durch den Stau, nicht durchblutete Vene injiziert und verteilt sich folglich im peripher des Staus gelegenen Gefäßsystems und führt zu einer Betäubung, der dort gelegenen Nervenendigungen (RICHTER, 2016).

3.3. Nebenwirkungen und Toxizität der Lokalanästhetika

Bei der Anwendung von Lokalanästhetika können unerwünschte lokale sowie systemische Wirkungen auftreten (ZINK und GRAF, 2011; RICHTER, 2016). Aufgrund der hemmenden Wirkung der Lokalanästhetika auf die Vasokonstriktion am Applikationsort, kommt es dort zu einer erhöhten Blutungsneigung (RICHTER, 2016). Des Weiteren sollten aufgrund der gewebereizenden Eigenschaften der Lokalanästhetika keine wiederholten Applikationen in kurzen Zeitabständen durchgeführt werden (RICHTER, 2016). Da die spannungsabhängigen Natrium-Kanäle, an welche die Lokalanästhetika binden, nicht nur an der neuronalen Informationsverarbeitung beteiligt sind, sondern vielmehr die zentrale funktionelle Einheit kommunizierender Zellverbände darstellen, kann es, bei einer exzessiv erhöhten Konzentration von Lokalanästhetika im Plasma, zum Auftreten systemisch toxischer Wirkungen kommen (ZINK und GRAF, 2011). Die Ursachen für eine exzessive Erhöhung des Plasmaspiegels können eine versehentliche intravenöse Applikation, eine Überdosierung (ZINK und GRAF, 2011) und oder ein zu großes Injektionsvolumen sein (RICHTER, 2016). Außerdem kann es durch abweichende Verhältnisse am Applikationsort, zum Beispiel durch eine gesteigerte Durchblutung, zur beschleunigten Resorption kommen (ZINK und GRAF, 2011; RICHTER, 2016). Des Weiteren kann bei Neonaten die Plasmaproteinbindung vermindert sein, wodurch die Metabolisierung des Lokalanästhetikums verzögert ist, was ebenfalls ein erhöhtes Risiko für systemische Wirkungen birgt (RICHTER, 2016).

Generell reagiert das zentrale Nervensystem (ZNS) sensibler auf systemische Anreicherung von Lokalanästhetika als das kardiovaskuläre System (ZINK und GRAF, 2011). Im ZNS hemmen die Lokalanästhetika Neuronen (RICHTER, 2016). Zuerst fallen inhibitorische Neurone aus und es kommt initial zu Erregungserscheinungen mit Ruhelosigkeit, Erbrechen, Nystagmus und Tremor bis hin zu generalisierten Krampfanfällen (RICHTER, 2016). Dies sind meist die ersten Vergiftungserscheinungen (RICHTER, 2016). Bei steigenden Konzentrationen kommt es schließlich zum Ausfall erregender Neuronen und es folgt eine zentrale Depression mit Koma bis hin zur Atemlähmung

(RICHTER, 2016). Die systemische Wirkung von Lokalanästhetika im kardiovaskulären System zeigt sich in einer Hemmung der Erregungsbildung und -fortleitung am Herzen (negative chronotrope, inotrope, dromotrope und bathmotrope Wirkung) (RICHTER, 2016). Die Folgen sind eine Bradykardie, eine Abnahme der Kontraktionskraft des Herzens und eine Verlangsamung der Erregungsleitung (Atrioventrikulärer Block (AV-Block)) bis hin zu lebensbedrohlichen Herzrhythmusstörungen (RICHTER, 2016). Durch den AV-Block und die vasodilatatorische Wirkung kann es zu einem starken Blutdruckabfall und letztendlich zum Kreislaufversagen kommen (RICHTER, 2016).

In der humanmedizinischen Literatur wird die Injektion von Lokalanästhetika, als schmerzhaft beschrieben (MADER et al., 1994; PALMON et al., 1998; ZILINSKY et al., 2005; GILL und PRAUSNITZ, 2007). Dabei treten die Schmerzen sowohl beim Einstich der Nadel ins Gewebe als auch bei der Infiltration der lokalanästhetischen Lösung auf (STRAZAR et al., 2013). Die Schmerzen bei der Infiltration werden unter anderem auf das injizierte Volumen zurückgeführt, was zu einer Dehnung des umliegenden Gewebes führt (BUSSELTON MEDICAL PRACTICE, 2018). Eine weitere Ursache stellt der niedrige pH-Wert der Lokalanästhesielösungen dar, der unter dem des umliegenden Körpergewebes liegt (BUSSELTON MEDICAL PRACTICE, 2018). Um die Schmerzen durch die Injektion von Lokalanästhetika zu reduzieren wurden in der Humanmedizin bereits zahlreiche Studien durchgeführt (ARNDT et al., 1983; MADER et al., 1994; COLARIC et al., 1998; PALMON et al., 1998; SEROUR et al., 1998; GILL und PRAUSNITZ, 2007; HANNA et al., 2009). Möglichkeiten sind das Erwärmen der lokalanästhetischen Lösungen und das Puffern dieser durch Zugabe von Natriumbikarbonat (MADER et al., 1994; COLARIC et al., 1998; HANNA et al., 2009), die Verwendung von Kanülen mit geringerem Durchmesser (PALMON et al., 1998; GILL und PRAUSNITZ, 2007) und eine langsame Applikation (ARNDT et al., 1983; SEROUR et al., 1998).

3.4. Ausgewählte Vertreter der Lokalanästhetika (Procain, Lidocain, Bupivacain und Mepivacain)

Procain gehört zu den Lokalanästhetika vom Estertyp (RICHTER, 2016). Aufgrund des bei der Esterhydrolyse entstehenden Spaltprodukts der Paraaminobenzoessäure (WAGNER, 2011), besteht bei diesen eine größere Gefahr allergischer Reaktionen als bei Lokalanästhetika vom Amidtyp (RICHTER, 2016). Von den in Tabelle 1 aufgeführten Lokalanästhetika ist Procain das Lokalanästhetikum mit der geringsten lokalanästhetischen Potenz (1) und der kürzesten Wirkdauer (30 min), allerdings wird es auch mit der geringsten gewebeschädigenden und systemtoxischen Wirkung beschrieben (RICHTER, 2016). Procain wird in der Tiermedizin zur Infiltrations- und Leitungsanästhesie verwendet und hat eine Zulassung für lebensmittelliefernde Tiere, inklusive Schweine (VETIDATA, 2020). Zur Oberflächenanästhesie ist Procain aufgrund der schnellen Inaktivierung am Applikationsort nicht geeignet (RICHTER, 2016).

Tabelle 1: Wichtige pharmakologische Eigenschaften und Arzneimittelzulassung der verwendeten Lokalanästhetika.

LA	pK _a	Potenz	Wirk-eintritt	Wirk-dauer*	Toxische Grenz-werte**	Zulassung Dtl.
Procain	9,0 ¹	1 ²	5-10 min ¹	30 (60) min ¹	20 (10) mg/kg ³	LM-liefernde Tiere
Lidocain	7,8 ¹	1,5-2 ²	1-5 min ¹	2 (4) h ¹	10 (5) mg/kg ³	Hunde, Katzen und Pferde ⁵
Bupivacain	8,1 ¹	5-10 ²	20-30 min ⁴	Bis zu 6 h ¹	3 (2) mg/kg ³	Hum.med. ⁵
Mepivacain	7,9 ¹	1,5-2 ²	1-5 min ⁴	1,5- 3 h ¹	10 (5) mg/kg ³	Pferde ⁵

LA = Lokalanästhetikum; * = ohne (mit) Sperrkörper; ** mit (ohne) Adrenalin; Dtl. = Deutschland; Hum.med. = Humanmedizin; LM = Lebensmittel; ¹ aus Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin (RICHTER, 2016); ² aus Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren (LÖSCHER, 2014b); ³ aus Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier (TACKE et al., 2011); ⁴ aus Veterinary Anesthesia and Analgesia (GARCIA, 2015); ⁵ Vetidata (VETIDATA, 2020)

Lidocain ist der bekannteste Vertreter aus der Gruppe der Lokalanästhetika vom Amidtyp und kann für alle Formen der Lokalanästhesie (Oberflächen-, Infiltrations-, Leitungs-, Rückenmarks- und intravenöse Regionalanästhesie) eingesetzt werden (RICHTER, 2016). Es

besitzt eine doppelt so hohe lokalanästhetische Potenz wie Procain und weist einen wesentlich schnelleren Wirkeintritt auf (Quellenverweis siehe Tabelle 1). Neben der Anwendung als Lokalanästhetikum findet Lidocain auch Anwendung als Notfallmedikament zur Behandlung von Arrhythmien (RICHTER, 2016). Für lebensmittelliefernde Tiere ist Lidocain in Deutschland nur für das Pferd, mit einer Wartezeit von drei beziehungsweise fünf Tagen, je nach Präparat, zugelassen (VETIDATA, 2020).

Mepivacain ist ebenfalls ein Vertreter aus der Amid-Gruppe und Lidocain in den pharmakologischen Eigenschaften ähnlich (Quellenverweis siehe Tabelle 1). Die lokalanästhetische Potenz entspricht der von Lidocain, hinsichtlich der Wirkdauer ist Mepivacain jedoch Lidocain, ohne Zusatz eines Sperrkörpers, überlegen (ZINK und GRAF, 2011). Als Tierarzneimittel ist Mepivacain derzeit nur zur epiduralen und intraartikulären Anästhesie bei Pferden zugelassen (VETIDATA, 2020).

Bupivacain ist das wirkungsstärkste Lokalanästhetikum vom Amidtyp (ZINK und GRAF, 2011). Die Wirkung setzt zwar langsamer ein, dafür wirkt es wesentlich länger (siehe Tabelle 1) (RICHTER, 2016). Neben der Potenz ist auch die toxische Wirkung von Bupivacain erhöht (RICHTER, 2016). Für die Anwendung am Tier steht derzeit in Deutschland kein Präparat zur Verfügung (VETIDATA, 2020). Im Gegensatz zu den Vertretern Procain, Lidocain und Mepivacain ist Bupivacain nicht in der Verordnung (VO) (EU) Nr. 37/2010 aufgeführt, somit ist der Einsatz beim lebensmittelliefernden Tier nicht erlaubt (ZINK und GRAF, 2011). Eine Ausnahme stellt die Anwendung bei Schlachtequiden dar. Da Bupivacain im Verzeichnis der zur Behandlung von Equiden wesentlichen Stoffe der VO (EU) Nr. 122/2013 aufgeführt ist (ZINK und GRAF, 2011), ist die Anwendung bei Schlachtequiden mit einer Wartezeit von sechs Monaten und Eintragung in den Equidenpass möglich (ZINK und GRAF, 2011).

4. Wundheilung

Der biologische Prozess der Wundheilung wird von physikalischen, biochemischen und zellulären Vorgängen bestimmt (LITZKE et al., 2003). Ziel ist die Wiederherstellung des verletzten Gewebes oder der Ersatz von

Gewebe durch Narbengewebe (LITZKE et al., 2003). Die Kastrationswunden von Saugferkeln heilen ohne Wundverschluss in der Regel innerhalb weniger Wochen vollständig ab (WALDMANN et al., 1994), wobei die Wunden von früh kastrierten Saugferkeln schneller heilen und weniger Komplikationen, wie Wundinfektionen und daraus resultierende Abszesse oder Samenstrangentzündungen, aufweisen (LACKNER et al., 2002; HEINRITZI et al., 2006).

Bezüglich des Einflusses von Lokalanästhetika auf die Wundheilung gibt es in der Literatur widersprüchliche Meinungen. CHVAPIL et al. (1979) schlussfolgern bezogen auf die reduzierte Glykosaminoglykan- und Kollagensynthese, dass Lokalanästhetika die Wundheilung negativ beeinflussen. Des Weiteren stellen MORRIS und APPLEBY (1980) in ihrer Laborstudie verzögerte Wundheilungen nach Infiltration von Procain in die Wunden im Zuge einer Laparatomie bei Ratten fest. Im Gegensatz dazu konnten BONDVILLE (1994) durch die Verwendung der topischen lokalanästhetischen Salbe EMLA® (EMLA® 25mg/g + 25 mg/g Creme, Lidocain/Prilocain, Aspen Germany GmbH, München) beim Menschen sogar eine verbesserte Wundheilung beobachten. Die Ergebnisse der Untersuchungen von ZÖLS (2006), ZANKL et al. (2007) und HOFMANN et al. (2019) geben keinen Hinweis auf einen negativen Effekt der Lokalanästhetika auf die Heilung der Kastrationswunden von Saugferkeln, wohingegen RITTERSHAUS (2009) bei Ferkeln, die eine Lokalanästhetikainjektion erhielten, vermehrte Wundheilungsstörungen feststellt. Für die topisch angewendete Lokalanästhesie hingegen werden keine negativen Effekte auf die Wundheilung beschrieben (RITTERSHAUS, 2009; SCHWENNEN et al., 2020). RITTERSHAUS (2009) schlussfolgert daraus, dass die Störungen der Wundheilung nicht direkt auf die Lokalanästhetika, sondern vielmehr auf die offenbar durch die Lokalanästhesie bedingte Protrusion des Samenstrangstumpfes aus der Kastrationswunde zurückzuführen sind. Die Protrusion behindert so möglicherweise den Wundverschluss und führt zu einer erhöhten Infektionsgefahr der Wunde (RITTERSHAUS, 2009). Diese Theorie deckt sich mit Ergebnissen von SCHWENNEN et al. (2020), die bei Ferkeln, denen Lokalanästhetikum in die Genitalregion injiziert wurde, einen

Vorfall des Samenstrangstumpfes aus der Kastrationswunde beobachteten und eine Verzögerung der Wundheilung beschrieben (SCHWENNEN et al., 2020).

5. Anatomie

Die Hodenhüllen umfassen den Hoden, den Nebenhoden und Teile des Samenstranges (LIEBICH und KÖNIG, 2018). Sie sind als Ausbuchtungen der verschiedenen Schichten der Bauchwand aufzufassen (GASSE, 2004). Im Hinblick auf klinische Belange lassen sich diese entsprechend in Hodensack (Skrotum) und Scheidenhautfortsatz (*Processus vaginalis*) unterteilen (GASSE, 2004; LIEBICH und KÖNIG, 2018). Der Hodensack besteht aus der äußeren Haut, der Unterhaut (*Tunica dartos*) und der *Fascia spermatica externa* (LIEBICH und KÖNIG, 2018). Der Scheidenhautfortsatz setzt sich aus der *Fascia spermatica interna* und der serösen *Lamina parietalis* der *Tunica vaginalis* zusammen (LIEBICH und KÖNIG, 2018). Die *Lamina visceralis* der *Tunica vaginalis* liegt dem Hoden als Bauchfellüberzug an und ist fest mit der *Tunica albuginea* des Hodens verwachsen (GASSE, 2004). Zwischen dem Hodensack und dem Scheidenhautfortsatz liegt der *M. cremaster* umhüllt von der *Fascia cremasterica* (GASSE, 2004). Lediglich im distalen Bereich des Hodensackes besteht eine Verbindung zwischen dem Hodensack und dem Scheidenhautfortsatzes in Form des *Ligamentum scroti* (GASSE, 2004). Der distale, weite Bereich, der vom Scheidenhautfortsatz gebildete Binnenraum wird als *Cavum vaginale* bezeichnet (GASSE, 2004).

Die Innervation der Hoden und Nebenhoden ist vegetativ und wird von sympathischen Fasern des *Nervus (N.) vagus* und des *Plexus pelvinus* abgeleitet (LIEBICH und KÖNIG, 2018). Der Hodensack wird von den *Nervi (Nn.) scortales dorsales*, welche dem *N. pudendus* entspringen innerviert (NICKEL et al., 2004). Zusätzlich ist der *N. genitofemoralis*, welcher beim Schwein meistens aus dem vierten Lendensegment entspringt, für die sensible Innervation der *Tunica vaginalis* von Hoden und Samenstrang sowie des *M. cremaster* verantwortlich (NICKEL et al., 2004).

III. ERWEITERTE METHODENBESCHREIBUNG

1. Ziel der Untersuchung

Anhand der in dieser Untersuchung gewonnen Daten sollte der Effekt auf die schmerzreduzierende Wirkung von intratestikulär und subskrotal verabreichten Lokalanästhetika bei der Kastration von wachen Saugferkeln beurteilt werden. Mithilfe der Parameter Abwehrbewegungen und Vokalisation wurde der Effekt auf die Wirksamkeit der Lokalanästhesie untersucht. Durch die Erfassung des Nachblutens, der Wundheilung, des Allgemeinbefindens und der Gewichtsentwicklung der Ferkel sowie der Bewertung koordinierter Bewegungsabläufe, wurde das Auftreten von Nebenwirkungen berücksichtigt.

2. Versuchsdurchführung

Die verblindete klinische Studie wurde in Übereinstimmung mit der EU-Richtlinie zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere (RL2010/63/EU) und dem deutschen Tierschutzgesetz (TierSchG, 2020) durchgeführt. Das Forschungsprotokoll wurde von der Ethikkommission für Tierversuche begutachtet und von der Regierung von Oberbayern genehmigt (AZ: ROB-55.2-2532.Vet_02-19-11). Die klinische Versuchsphase fand von November 2019 bis Februar 2020 statt. Der Versuch ist Teil eines durch das BMEL geförderten Verbundprojektes zur Wirksamkeit der Schmerzausschaltung durch Lokalanästhesie bei der Ferkelkastration. Projektpartner der Klinik für Schweine waren darin der Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung der LMU München sowie das Zentrum für Präklinische Forschung am Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München (TUM).

2.1. Versuchsbetrieb

Der Versuch wurde in einem schweinehaltenden Betrieb in Oberbayern durchgeführt. Dabei handelt es sich um einen geschlossenen Betrieb mit 80 Sauen, welche in einem dreiwöchigen Rhythmus abferkeln. Die Sauen befinden sich im Zeitraum von einer Woche vor der Abferkelung bis zum Ende der Säugezeit in 3,8 m² großen Abferkelbuchten mit planbefestigtem

Teilspaltenboden in Ferkelschutzkörben. In jeder Abferkelbucht befindet sich ein Ferkelnest, bestehend aus zwei Seitenbegrenzungen und einer Abdeckung mit Infrarot-Wärmelampe. Zusätzlich ist das Ferkelnest mit einer Fußbodenheizung versehen und mit Sägespänen eingestreut. Die Ferkel werden nach einer vierwöchigen Säugezeit abgesetzt.

2.2. Versuchstiere, Versuchsgruppen und Studiendesign

Es wurden 71 klinisch gesunde und normalanatomische männliche Ferkel, aus 16 Würfen (Piétrain x Deutsches Edelschwein / Deutsche Landrasse) in die Untersuchung eingeschlossen. Zum Zeitpunkt der Kastration waren die Ferkel drei bis sieben Tage alt und wogen mindestens 1,4 kg. Am Einschlusstag (zweiter bis sechster Lebenstag) wurde den Ferkeln intramuskulär Eisen appliziert (Ursoferran 200 mg/ml Injektionslösung für Schweine, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland). Darüber hinaus wurden, vor Beginn des Versuchs, keine weiteren schmerzhaften Eingriffe, wie das Kupieren der Schwänze oder das Einziehen von Ohrmarken vorgenommen. Beim Einschluss wurde das Allgemeinbefinden bewertet, das Gewicht (MS Wiegeplateau maximal 100 kg, Schippers GmbH, Kerken, Deutschland) erfasst und die physiologische Lage sowie Anatomie der Hoden kontrolliert. Des Weiteren wurden die Ferkel individuell mit einem Tiermarkierungsspray gekennzeichnet (RAIDEX Viehzeichenspray für Rinder und Schweine, RAIDEX GmbH Dettingen/Erms, Deutschland) und entsprechend der verwendeten Lokalanästhetika in vier Lokalanästhesiegruppen und zwei Kontrollgruppen randomisiert eingeteilt (siehe Tabelle 2). Zusätzlich trainierten die Ferkel den Hindernislauf entsprechend dem Vorbild von BILSBORROW et al. (2016) (siehe Figure 1). Dafür passierten sie den Lauf zweimal ohne Hürden und anschließend zweimal mit Hürden (siehe Abbildung 1).

Tabelle 2: Einteilung der Versuchsgruppen.

Gruppe	Tierzahl (n)	Präparat	Wirkstoff		Eingriff	
			LA (mg/ Ferkel)	Epin. (mg/ Ferkel)	Inj.	Kastr.
Procain (P)	12	Pronestestic ¹ 4 %	Procain (80)	0.04	+	+
Lidocain (L)	12	Xylocitin ² 2 %	Lidocain (40)	0.02	+	+
Bupivacain (B)	12	Bupivacain ³ 0,5 %	Bupivacain (10)	0.01	+	+
Mepivacain (M)	12	Mepidor ⁴ 2 %	Mepivacain (40)	-	+	+
NaCl (NaCl)	12	NaCl ⁵	-	-	+	+
Handling (H)	11	-	-	-	simu- liert	simu- liert

¹ Pronestestic 40 mg/ml Injektionslösung für Pferde, Rinder, Schweine und Schafe, Fatro S.p.A., Ozzano Emilia (Bologna), Italien; ² Xylocitin® 2% mit Epinephrin, mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Deutschland; ³ Bupivacain 0,5% mit Epinephrin, JENAPHARM®, mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Deutschland; ⁴ Mepidor 20 mg/ml, Injektionslösung für Pferde, Richter Pharma AG, Wels, Österreich; ⁵ Isotone Kochsalzlösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland; LA = Lokalanästhetikum; Epin = Epinephrin; Inj. = Injektion; Kastr. = Kastration

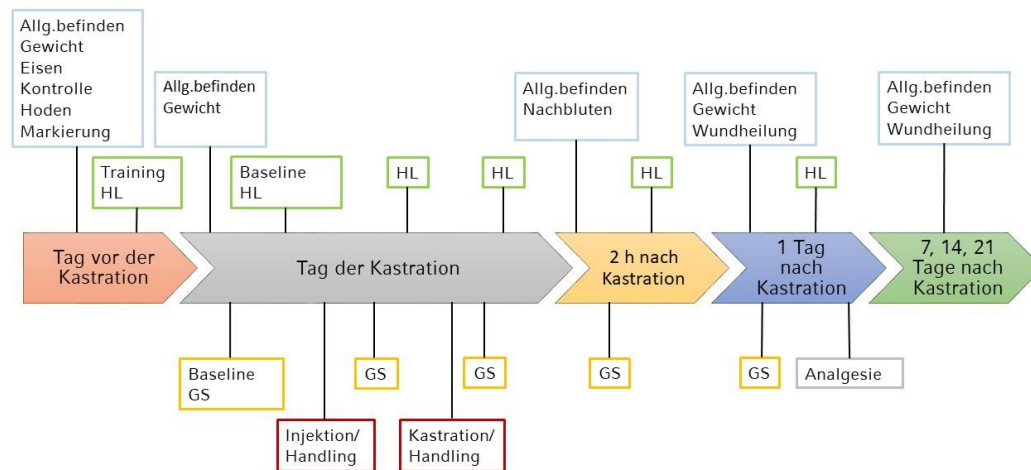


Abbildung 1: Zeitlicher Ablauf der Studie vom Tag vor der Kastration bis zum 21. Tag nach der Kastration.

Allg.befinden = Allgemeinbefinden; GS = Grimace Scale; HL = Hindernislauf

Am Tag der Kastration wurde erneut das Allgemeinbefinden bewertet und die Tiere gewogen. Angelehnt an die Studie von DI GIMINIANI et al. (2016) wurden die Ferkel für maximal zwei Minuten in eine Observationsarena gesetzt, um den Basalwert des Grimace Scale (GS) zu erheben. Die Erhebung und Auswertung der Daten der Observationsarena sind Teil einer weiteren Untersuchung und werden deshalb in dieser Arbeit nicht weiter erörtert. Anschließend wurden die Ferkel in den Hindernislauf gesetzt und passierten diesen dreimal zur Erhebung des Basalwertes. Zwischen der Erhebung der Basalwerte und der sich anschließenden Injektion bzw. Fixation wurde den Ferkeln eine kurze Erholungszeit von mindestens fünf Minuten gewährt.

Für die Injektion und die Kastration wurden jeweils alle männlichen Ferkel eines Wurfes aus der Bucht gefangen und nacheinander, auf dem Rücken liegend mit nach vorne gestreckten Hinterbeinen, in einem Kastrationsgestell (Schippers GmbH, Kerken, Deutschland) fixiert. Die Injektion und die Kastration wurden von drei geübten Tierärztinnen verblindet (exkl. Gruppe H) durchgeführt.

Allen Ferkeln, mit Ausnahme der Ferkel der Gruppe H, wurde 20 Minuten vor der Kastration ein Gesamtvolumen von 2 ml des jeweiligen Lokalanästhetikums oder Natriumchlorid, entsprechend der

Versuchsgruppe injiziert (siehe Tabelle 2). Zur intratestikulären Injektion wurde der Hoden zwischen Daumen und Zeigefinger kaudal fixiert und die Kanüle parallel zur Längsachse, in leicht medialer Stichrichtung von kaudal nach kranial, fast komplett in den Hoden eingestochen. An dieser Stelle wurde ein Depot von 0,5 ml gesetzt. Direkt im Anschluss an die intratestikuläre erfolgte die subskrotale Injektion. Hierfür wurde der Hoden nicht mehr fixiert, sondern lediglich mit Daumen und Zeigefinger eine Hautfalte der Skrotalhaut aufgezo-gen. Gleichzeitig wurde die Kanüle aus dem Hoden, bis unter die Haut zurückgezogen und dort ein subskrotales Depot von 0,5 ml gesetzt. Dieser Vorgang wurde für den zweiten Hoden wiederholt. Für die Injektion wurden eine automatische Selbstfüllerspritze (HSW ECO-MATIC® - Automatische Selbstfüllerspritze zur Injektion mit Flaschenaufsatz 1 ml, Henke-Sass, Wolf GmbH, Tuttlingen, Deutschland) und Kanülen mit einer Größe von 25 G (0,5 x 16 mm, B. Braun TravaCare GmbH, Halbergmoos, Deutschland) verwendet. Bei den Ferkeln der Gruppe H wurden die Hoden auf dieselbe Weise fixiert, aber die Injektion lediglich simuliert. Nach der Injektion wurden die Ferkel zuerst in die Observationsarena gesetzt und passierten anschließend den Hindernislauf. In der Wartezeit bis zur Kastration wurden die Ferkel zurück zur Sau in die Abferkelbucht gesetzt.

Nach einer Wartezeit von 20 min wurden alle männlichen Ferkel erneut aus der Bucht gefangen, fixiert und mit Ausnahme der Gruppe H, kastriert. Für die Kastration wurde zuerst das Skrotum mit einer antiseptischen Lösung (octenispet® wässriges Wund- und Schleimhautantiseptikum, farblos, Schuelke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland) gereinigt. Anschließend wurde ein Hoden zwischen Daumen und Zeigefinger kaudal fixiert. Zur Eröffnung der Skrotalhaut einschließlich der *Tunica vaginalis* wurde mit einem sterilen Skalpell (Skalpellklingen Karbonstahl, steril 21, Heinz Herenz Medizinalbedarf GmbH, Hamburg, Deutschland; Skalpellgriff Gr. 4, AESCULAP AG & CO. KG, Tuttlingen, Deutschland) ein Schnitt parallel zur Raphe scroti gesetzt. Danach wurde der Samenstrang mit dem Skalpell durchtrennt. Der Hautschnitt und die Durchtrennung des Samenstranges wurden analog für den zweiten Hoden wiederholt. Für jedes Ferkel wurde eine neue sterile Skalpellklinge verwendet. Auch bei

Ferkeln der Gruppe H erfolgte die Fixierung der Hoden. Zur Simulation des Hautschnittes wurde mit der Rückseite des Skalpellhalters über den Hoden gestrichen. Nach der Operation wurde kein Desinfektionsmittel auf die Wunde aufgetragen, um mögliche Verhaltensänderungen durch reizende Substanzen zu vermeiden. Analog zur Injektion wurden die Ferkel nach der Kastration zuerst in die Observationsarena gesetzt und passierten anschließend den Hindernislauf. Die Ferkel der Gruppe NaCl wurden betäubungslos kastriert und dienten als Positivkontrolle für schmerzassoziertes Verhalten ausgelöst durch die Injektion und die Kastration. Sie wurden analog zu den anderen Gruppen fixiert. Um eine analgetische Wirkung durch Schmerzmittel auf das schmerzassozierte Verhalten der Ferkel während und nach der Injektion und Kastration zu vermeiden, wurde den Ferkel erst einen Tag nach dem Eingriff ein nichtsteroidales Antiphlogistikum (Metacam® 5 mg/ml, Injektionslösung für Rinder und Schweine, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim am Rhein, Deutschland; 0,4mg/kg) entsprechend des Gewichtes, intramuskulär injiziert. Als Negativkontrolle diente die Handling-Gruppe. Ferkel dieser Gruppe wurden einer simulierten Injektion und Kastration unterzogen, um stressassoziertes Verhalten durch das Handling der Ferkel und die Fixation der Hoden zu erfassen.

Zwei Stunden nach der Kastration wurde das Allgemeinbefinden und das Nachbluten der Kastrationswunden anhand eines Score angelehnt an ENZ et al. (2013b) bewertet. Einen Tag nach der Kastration wurde das Allgemeinbefinden und Gewicht der Ferkel sowie die Wundheilung nach ZANKL (2007) bewertet. Ergänzend dazu wurden die Ferkel noch einmal in die Observationsarena und den Hindernislauf gesetzt. Sieben, 14 und 21 Tage nach der Kastration wurde analog zum ersten Tag nach der Kastration das Allgemeinbefinden und die Wundheilung bewertet und das Gewicht erfasst.

2.3. Datenerhebung

2.3.1. Abwehrbewegungen und Vokalisation

Während der Injektion und der Kastration wurden die Abwehrbewegungen der Ferkel gefilmt (Samsung Galaxy S6-Samsung Electronics GmbH,

Schwalbach, Deutschland). Die Aufnahmen wurden im Anschluss immer von derselben Person verblindet ausgewertet. Die Bewertung der Abwehrbewegungen erfolgte anhand eines modifizierten Scores in Anlehnung an LEIDIG et al. (2009) (siehe Tabelle 3). Die Injektion, der Hautschnitt und die Durchtrennung des Samenstranges wurden separat nach Intensität und Dauer beurteilt.

Tabelle 3: Score angelehnt an LEIDIG et al. (2009) zur Bewertung der Abwehrbewegungen während der Injektion, des Hautschnittes sowie der Durchtrennung des Samenstranges.

Kriterium	Punktezahl	Beschreibung
Intensität	0	Keine Bewegung
	1	Bewegung mit einem Bein
	2	Bewegung mit zwei Beinen
	3	Bewegung mit drei Beinen
	4	Bewegung mit vier Beinen
Dauer	0	Keine Bewegung
	1	Einzelne Bewegung
	2	Wiederholte Bewegung (2 - 4)
	3	Anhaltende Bewegung (> 4)

Die Abwehrbewegungen wurden jeweils für den rechten und linken Hoden separat erhoben und zur Auswertung zusammengefasst. Somit war die maximal erreichbare Punktzahl für die Injektion, den Hautschnitt und die Durchtrennung des Samenstranges jeweils 14 (7 für jeden Hoden). Zusätzlich wurde, basierend auf diesen Aufnahmen, die Vokalisation der Ferkel während der Injektion, dem Hautschnitt und der Durchtrennung des Samenstranges ebenfalls durch eine Person verblindet beurteilt. Die Vokalisation wurde entweder mit 1 = Ja, wenn das Ferkel mit einem Aufschrei auf den Eingriff reagierte oder mit 0 = Nein (kein Aufschrei) bewertet. Des Weiteren wurden, um die Zuverlässigkeit des Beobachters sowie die Anwendbarkeit des Scores zu überprüfen, die Aufnahmen der

Abwehrbewegungen noch von zwei weiteren Personen ebenfalls verblindet ausgewertet.

2.3.2. Verhalten im Hindernislauf

Nach dem Vorbild von BILSBORROW et al. (2016) wurde die Navigationszeit der Ferkel durch einen Hindernislauf vor der Kastration, nach der Injektion, nach der Kastration sowie zwei Stunden und einen Tag nach der Kastration bestimmt. Zusätzlich wurde zu diesen Zeitpunkten auf Laufauffälligkeiten geachtet. Der Hindernislauf wurde in der Abferkelbucht hinter der Sau platziert. In der vorliegenden Studie wurde ein Hindernislauf mit einer Länge von 1400 mm, einer Breite von 210 mm und einer Höhe von 400 mm verwendet (siehe Figure 1). Im Hindernislauf befanden sich im Abstand von 600 mm zwei Hürden mit einer Höhe von je 70 mm. Um einen standardisierten und trittsicheren Untergrund zu gewährleisten, wurde eine isolierende Matte als Boden verwendet. Am Ende des Hindernislaufes befand sich auf der linken Seite eine Aussparung, wodurch die Ferkel zurück in die Abferkelbucht gelangten. Nach oben hin war der Hindernislauf geöffnet. Die Ferkel wurden beim Passieren des Hindernislaufes mit einer Digitalkamera (Panasonic LUMIX DMC-FZ8, Matsushita Electric Industrial Co., Ltd., Osaka, Japan) gefilmt. Einen Tag vor der Kastration wurde die Passage des Hindernislaufes geübt. Insgesamt fanden vier Trainingsläufe statt, zwei Läufe ohne Hürden und anschließend zwei mit Hürden. Am Tag der Kastration, vor Beginn des Versuchs, wurde die Baseline erhoben. Dafür passierten die Ferkel in drei aufeinanderfolgenden Läufen den Hindernislauf. Wenn ein Ferkel Kot oder Urin absetzte, sich umdrehte oder über zehn Sekunden auf einer Stelle verharrte, wurde es einmalig an den Start zurückgesetzt. Trat solch ein Verhalten erneut auf, wurde der Lauf abgebrochen und das Ferkel zurück in die Abferkelbucht gesetzt. Die Aufnahmen wurden verblindet von einer Person ausgewertet. Dabei wurde die Zeit gemessen, sobald das Ferkel den Lauf startete und gestoppt sobald die letzte Hürde überwunden war. Zusätzlich wurden Laufauffälligkeiten wie Trippeln, instabiler Gang, kyphotische Rückenlinie oder das Verweigern einer Hürde notiert.

2.3.3. Postoperative Beurteilungen/ Untersuchungen

2.3.3.1. Nachbluten

Zwei Stunden nach der Kastration wurde das Nachbluten mittels eines Scores angelehnt an ENZ et al. (2013a) bewertet. Die Skala reichte von 0 = keine Blutung über 1 = ggr. Blutung (maximal 2 cm Ausbreitung) und 2 = mgr. Blutung (Perinealbereich großflächig blutig, > 2 cm Ausbreitung) bis zu 3 = hgr. Blutung (Perinealbereich und Hintergliedmaßen blutverschmiert).

2.3.3.2. Wundheilung und durchschnittliche Tageszunahmen

An Tag eins, sieben, 14 und 21 nach der Kastration wurden die Ferkel gewogen (MS Wiegeplateau maximal 100 kg, Schippers GmbH, Kerken, Deutschland) und die Kastrationswunden nach ZANKL (2007) beurteilt. Die Bewertung der Wunden erfolgte anhand der Wundoberfläche [0 = Wundheilung obB (geschlossene trockene Wunde), 1 = Wundheilung ggr. gestört (Schwellung; Rötung), 2 = klaffende Wunde] der Wundsekretion (0 = ohne Sekretion, 1 = seröse / blutige Sekretion, 2 = eitrige Sekretion) und der Konsistenz und Umfang der Samenstränge (0 = kaum palpierbarer Samenstrang, 1 = bis bleistiftstark, weich- bis derbelastisch, 2 = größer als bleistiftstark, weich- bis derbelastisch, 3 = größer als bleistiftstark, verhärtet oder fluktuierend).

3. Statistik

Die Daten wurden mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel® 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) erfasst. Die Verteilung der Parameter wurde mittels Shapiro-Wilk-Test untersucht. Für die statistische Datenanalyse wurden alle Versuchsgruppen miteinander verglichen. Für die Untersuchung der Parameter Alter und Gewicht am Tag der Kastration sowie die Bestimmung des Intraklassenkorrelationskoeffizienten (ICC) wurde die Statistiksoftware IBM SPSS Statistics® für Windows, Version 26.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) verwendet. Die Parameter Abwehrbewegungen, Vokalisation, Nachbluten, Wundheilung, Tageszunahmen und die Navigationszeiten des Hindernislaufes wurden mit der Software R Version 3.6.1. ausgewertet.

Zur Auswahl des geeigneten statistischen Testverfahrens wurden die Parameter mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung getestet. Für die nicht normalverteilten Parameter Abwehrbewegungen, Wundheilung und Nachbluten wurde ein Kruskal-Wallis-Test, gefolgt von einem Dunn-Test für Mehrfachvergleiche zwischen den Gruppen P, L, B, M, H und NaCl mit FDR (False Discovery Rate)-Korrektur nach Benjamin und Hochberg durchgeführt. Für normalverteilte Parameter (durchschnittliche Tageszunahmen) wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt vom Games-Howell Post-hoc-Test verwendet. Für die Parameter Alter und Gewicht am Tag der Kastration wurde ein nichtparametrischer Test (Mann-Whitney-U) durchgeführt. Die Vokalisation wurde mit dem exakten Test nach Fisher und anschließender Benjamin und Hochberg Korrektur analysiert. Mithilfe eines linearen gemischten Modells wurden die Navigationszeiten analysiert. Werte von $p < 0,05$ galten als signifikant. Zusätzlich wurde unter Verwendung des ICC die Übereinstimmung der Beurteilung der Abwehrbewegungen (Interrater-Reliabilität) quantifiziert. Der ICC wurde auf Grundlage eines Modells mit gemischten Zwei-Weg-Effekten, bei dem die Personeneffekte zufällig und die Maßeffekte fest sind, berechnet. Um festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen den Abwehrbewegungen und der Vokalisation besteht, wurde ein lineares gemischtes Modell, mit der Ferkelidentität als Zufallseffekt, verwendet.

IV. PUBLIZIERTE STUDIENERGEBNISSE

Local Anesthesia in Piglets Undergoing Castration - A Comparative Study to Investigate the Analgesic Effects of Four Local Anesthetics Based on Defensive Behavior and Side Effects

Nora Abendschön ^{1,*}, Steffanie Senf ¹, Pauline Deffner ¹, Regina Miller ², Andrea Grott ², Julia Werner ³, Anna M. Saller ³, Judith Reiser ³, Christine Weiß ¹, Yury Zablotski ¹, Johannes Fischer ³, Shana Bergmann ², Michael H. Erhard ², Christine Baumgartner ³, Mathias Ritzmann ¹ and Susanne Zöls ¹

¹ Clinic for Swine, Center for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, 85764 Oberschleißheim, Bavaria, Germany; S.Senf@med.vetmed.uni-muenchen.de (S.S.); P.Deffner@med.vetmed.uni-muenchen.de (P.D.); C.Weiss@med.vetmed.uni-muenchen.de (C.W.); Y.Zablotski@med.vetmed.uni-muenchen.de (Y.Z.); Ritzmann@med.vetmed.uni-muenchen.de (M.R.); S.Zoels@med.vetmed.uni-muenchen.de (S.Z.)

² Chair of Animal Welfare, Ethology, Animal Hygiene and Husbandry, LMU Munich, 80539 Munich, Bavaria, Germany; r.miller@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (R.M.); a.schoerwerth@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (A.G.); s.bergmann@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (S.B.); m.erhard@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (M.H.E.)

³ Center of Preclinical Research, Technical University of Munich, 81675 Munich, Bavaria, Germany; julia.werner@tum.de (J.W.); anna.saller@tum.de (A.M.S.); judith.reiser@tum.de (J.R.); fischer.johannes@tum.de (J.F.); christine.baumgartner@tum.de (C.B.)

* Correspondence: Nora.Abendschoen@med.vetmed.uni-muenchen.de

Animals **2020**, 10(10), 1752; <https://doi.org/10.3390/ani10101752>

Received: 27 August 2020; Accepted: 24 September 2020; Published: 26 September 2020

Simple Summary: More than 80 million male piglets are castrated every year within the first week of life mostly without pain relief in the EU. Castration is performed to prevent boar taint, to minimize aggressive and sexual behavior associated with intact males and to gain a constant quality of meat. It is an important animal welfare issue to eliminate pain caused by castration. Local anesthesia, meaning the sole injection of a local anesthetic into the testicles and in the surrounding tissue of conscious piglets, prior to castration is a currently discussed method in Germany. Thus, it was the aim of the present study to investigate the effect of four local anesthetics (procaine, lidocaine, bupivacaine and mepivacaine) on pain relief during surgical castration in conscious piglets. To assess pain, defensive behavior of piglets undergoing injection and castration was evaluated. In addition, attention was paid to possible side effects. Considering healing, bleeding and weight gain no negative impacts were observed, but impairments of locomotor activity occurred. The results indicate that lidocaine and mepivacaine are able to achieve significant pain relief during the castration procedure, whereas procaine and bupivacaine only during the severing of the spermatic cord.

Abstract: The aim of the present study was to investigate the effect of four local anesthetics on pain relief during surgical castration under standardized conditions in conscious piglets. Therefore, 71 male piglets (three to seven days) were distributed into control groups (handling, castration without anesthesia or analgesia) and local anesthetic trial groups (procaine, lidocaine, bupivacaine, mepivacaine). Then, 20 min prior to castration, animals of the treatment groups, except piglets in the handling group, received an injection of a local anesthetic or sodium chloride of 0.5 mL intratesticularly and 0.5 mL subscrotally. During injection and castration, defensive behavior was evaluated. Locomotor activity, as well as postoperative bleeding, wound healing and average daily weight gain were assessed to detect side effects. The injection caused increased defensive movements, significantly in the bupivacaine group. Lidocaine and mepivacaine significantly reduced defensive movements during castration, and procaine and bupivacaine only during severing of the spermatic cord. Impairments of locomotor activity were found in

piglets injected with lidocaine, bupivacaine or sodium chloride. Considering healing, bleeding and weight gain, no negative impacts were observed. In conclusion, lidocaine and mepivacaine were able to achieve significant pain relief during the castration procedure, whereas procaine and bupivacaine only during the severing of the spermatic cord. Moreover, the injection of bupivacaine seemed to be painful itself.

Keywords: piglet; castration; local anesthesia; behavior; pain; procaine; lidocaine; bupivacaine; mepivacaine; animal welfare

1. Introduction

In the EU, more than 80 million male piglets are castrated every year within the first week of life, mostly without pain relief [1]. Castration is performed to prevent boar taint, to minimize aggressive and sexual behavior associated with intact males and to gain a constant quality of meat [2–4]. The majority of the EU member states are still carrying out surgical castration with or without anesthesia. The exceptions are Ireland, the United Kingdom, the Netherlands, Portugal and Spain, where 20% or less of the male pigs are castrated [5]. According to EU Directive 2008/120/EC, better practices are demanded [6]. In Germany, the Animal Welfare Act prohibits the surgical castration of male piglets without anesthesia, even under the age of eight days, as of 1 January 2021 [7]. In addition to a complete waiver of surgical castration by implementing the practices of boar fattening or GnRH (gonadotropin releasing hormone) vaccination, an improved practice of male piglet castration requires sufficient anesthesia and analgesia to avoid acute and postoperative pain. Several possibilities to ensure these requirements are discussed: injectable anesthesia, inhalation anesthesia and local anesthesia. The possibility of castration with local anesthetics is currently not permitted in Germany, because the evidence of the efficacy of this method is still controversially discussed. Kluivers-Poodt et al. [8], Hansson et al. [9] and Leidig et al. [10] concluded that the use of local anesthetics reduces pain responses during castration, whereas Perez-Pedraza et al. [11] did not show any effect. Bonastre et al. [12] as well as Rauh et al. [13] indicated that local anesthetics lead to a

reduction in pain-related responses, without eliminating the pain. These previous studies differ in terms of used local anesthetics, application methods and obtained pain associated parameters and are therefore difficult to compare. Procaine is the local anesthetic with the lowest anesthetic potency [14] and the only approved local anesthetic for pigs in Germany at the moment. Lidocaine is currently used for piglet castration in Norway, Sweden and Italy [5]. The effects of procaine and lidocaine in piglets undergoing castration have been investigated in various studies [8–13,15] but showed contradictory results. Furthermore, Bonastre et al. [12] investigated the effect of the combination of lidocaine and bupivacaine. Bupivacaine is described with the highest anesthetic potency [14]. The local anesthetic mepivacaine is commonly used in horses. To the authors' knowledge, there has been no investigation on mepivacaine in conscious piglets undergoing castration so far.

To assess pain in piglets undergoing castration, different methods are available. As physiological parameters i.e., blood parameters, such as cortisol [12,16–20] adrenalin and adrenocorticotrophic hormones [16,18,19] and changes in heart rate and blood pressure [21] can be assessed. Furthermore, behavioral variables, such as defensive movements [10,21,22] and vocalization [8,20,23–27] can be used for pain assessment. Additionally, Bilsborrow et al. [28] described an objective test to assess pain in piglets where the navigation time through a handling chute is determined.

In a first already published study part, the four local anesthetics, procaine, lidocaine, bupivacaine and mepivacaine, were evaluated based on pain-related physiological parameters and limb movements under a minimal anesthesia model using low doses of isoflurane [21]. Under light anesthesia, all four local anesthetics were highly effective at reducing signs of nociception during castration.

The aim of the present study was to investigate the effect of four local anesthetics (procaine, lidocaine, bupivacaine, mepivacaine) on pain relief during surgical castration under standardized conditions in conscious piglets as a second part of a comprehensive study. To evaluate pain, defensive movements and vocalization were assessed. To detect side

effects locomotor activity, postoperative bleeding, wound healing, weight gain and mortality were evaluated.

2. Materials and Methods

Data of four groups of piglets castrated under local anesthesia were collected and compared with piglets castrated without local anesthesia and with only handled piglets. The study was performed in accordance with the EU Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes and the German Animal Welfare Act (2019). The research protocol was approved by the Ethical Committee for Animal Experiments of the Government of Upper Bavaria, Munich, Germany (reference number ROB-55.2-2532.Vet_02-19-11).

2.1. *Animals and Housing*

The present randomized, double-blinded study was conducted in an experimental farrow-to-finish farm in Bavaria, Germany, with 80 sows farrowing in a three-week batch. The piglets (Piétrain x Large White/Landrace) were housed in farrowing units on partially slatted floor, except for the nest area, which was made up of concrete floor and provided with shavings and an infrared heat lamp. All piglets in the study received 1 mL of an intramuscular iron supplementation (Ursoferran 200 mg/mL solution for injection for pigs, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Germany) the day before castration. Besides, no other painful procedures, such as tail docking or ear tagging, were carried out before the start of the study.

Data were collected from 71 male piglets between three to seven days of life (5.2 ± 1.09 days, 2.2 ± 0.48 kg (mean \pm standard deviation)) of 16 litters. Inclusion criteria were a good general condition, a healthy sow and a minimum weight of 1.4 kg on the day of castration. Piglets with any deviation from the normal anatomical condition (e.g., hernia scrotalis or inguinalis) were excluded.

2.2. *Experimental Design*

On the day before castration, each piglet was weighed (MS weighing plateau max. 100 kg, Schippers GmbH, Kerken, Germany), the general

conditions of the piglets were checked and a computer-generated simple randomization was used to distribute the animals to one of the six experimental groups (Table 1). Additionally, the handling chute, according to Bilsborrow et al. [28] was trained four times with each piglet (two times without and two times with hurdles) (Figure 1).

Table 1: Classification of study groups.

Group	Preparation	Active Agent		Intervention		Animals (n)
		LA (mg/Animal)	Epin. (mg/mL)	Injection	Castration	
P	Pronestestic 40 mg/mL ¹	procaine (80)	0.02	+	+	12
L	Xylocitin® 2% ²	lidocaine (40)	0.01	+	+	12
B	Bupivacain 0.5% ³	bupivacaine (10)	0.005	+	+	12
M	Mepidor 20 mg/mL ⁴	mepivacaine (40)	-	+	+	12
NaCl	NaCl 0.9% ⁵	-	-	+	+	12
H	-	-	-	sham injection	sham castration	11

P = procaine; L = lidocaine; B = bupivacaine; M = mepivacaine; NaCl = sodium chloride; H = handling; ¹ Pronestestic 40 mg/mL solution for injection for horses, cattle, pigs and sheep FATRO S.p.A, Ozzano Emilia (Bologna), Italy; ² Xylocitin® 2% with epinephrine, mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany; ³ Bupivacain 0.5% with epinephrine, JENAPHARM®, mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany; ⁴ Mepidor 20 mg/mL solution for injection for horses, Richter Pharma AG, Wels, Austria; ⁵ NaCl 0.9%, 0.9% Sodium Chloride Intravenous Infusion B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany; LA: local anesthetic agent with hydrochloride; epin.: epinephrine.

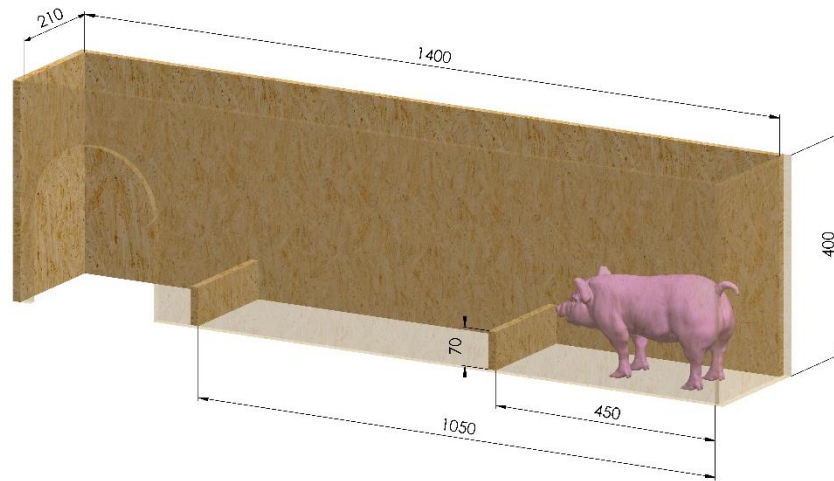


Figure 1: Illustration of the handling chute according to Bilsborrow et al. [28]; dimensions = internal dimensions in mm.

On the morning of the castration day, piglets passed through the handling chute three consecutive times to determine the baseline. During injection and castration, all piglets, including the handling group, were fixed in a castration cradle (Schipper GmbH, Kerken, Germany). The piglets were given at least five minutes to rest before the injection.

All piglets except those of the handling group (H, only fixation) were injected with a total volume of 2 mL with the respective local anesthetic (procaine hydrochloride (P), lidocaine hydrochloride (L), bupivacaine hydrochloride (B) and mepivacaine hydrochloride (M)) or 0.9% sodium chloride (NaCl) according to the study group. Then, 0.5 mL were injected intratesticularly and 0.5 mL subscrotally for each testicle. For the injection an automatic self-filling system 1 mL syringe (HSW ECO-MATIC®, Henke-Sass, Wolf GmbH, Tuttlingen, Germany) with a 25 G sized cannula (0.5 × 16 mm, B. Braun TravaCare GmbH, Hallbergmoos, Germany) was used. The intratesticular injection was performed by fixing the testicle between the thumb and index finger caudally. Directly following the intratesticular injection the subscrotal single point injection was performed by releasing the fixed testicle, retracting the cannula from it but leaving the cannula under the skin and making a skin fold of the scrotum. The intratesticular and subscrotal injection was repeated for the second testicle. Thereafter, the piglets were returned into the farrowing pen for a period of 20 min.

Afterwards, all piglets were removed again from the farrowing pen and, with the exception of group H (only fixation and simulated

interventions), castrated. Therefore, the scrotal area was cleaned with an antiseptic solution (octenisept® aqueous wound and mucous membrane antiseptic, colorless, Schuelke & Mayr GmbH, Norderstedt, Germany). Using a sterile scalpel (scalpel blades carbon steel, sterile 21, Heinz Herenz Medizinalbedarf GbmH, Hamburg, Germany; scalpel handle no. 4, AESCULAP AG & CO. KG, Tuttlingen, Germany) for every piglet, scrotal tissue and tunica vaginalis were opened by a skin incision parallel to the raphe scroti and the first testicle was removed by severing of the spermatic cord with the scalpel. Skin incision and severing of the spermatic cord were repeated for the second testicle. The injection and castration were performed by three trained veterinarians. After surgery, no disinfectant was applied on the scrotal area to avoid behavioral changes by irritating substances. Group NaCl served as positive control for pain-related behavior induced by injection and castration without pain relief. As negative control, piglets from group H underwent simulated injection and castration to measure stress related behavior. In order to avoid an analgesic effect on the pain-related behavior during and after injection and castration, meloxicam (0.4 mg/kg) (Metacam® 5 mg/mL, solution for injection for cattle and pigs, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim am Rhein, Germany) was not administered until one day after castration.

2.3. Data Sampling

For data sampling, evaluation of recordings and also data analysis for all persons involved were blinded at any time with the exception for group H (handling).

2.3.1. Defensive Behavior

To evaluate defensive movements, piglets were filmed during injection and castration procedure (Samsung Galaxy S6-Samsung Electronics GmbH, Schwalbach, Germany). Analyzing of the defensive movements according to a score modified by Leidig et al. [10] (Table S 1) was always performed by the same blinded person. "Injection", "skin incision" and "severing of the spermatic cord" were evaluated separately according to intensity (0–4) and duration (0–3). The intensity was scaled into 0 = no

movements, 1 = moving of one limb, 2 = moving of two limbs, 3 = moving of three limbs, 4 = moving of all four limbs. The duration was scaled into 0 = no movements, 1 = one single movement, 2 = repeated movements (2–4), 3 = continuous movements (>4). Defensive movements were evaluated for the right and left testicle separately. The single scores resulted in a maximum of seven for each testicle and step. The scores of both testicles and each step were summed up for evaluation. This results in a combined total score for “injection”, “skin incision” and “severing of the spermatic cord” from 0 to 14. On the basis of the audio of these recordings, a blinded person evaluated vocalization with “Yes” or “No”. Vocalization was assessed with “Yes”, if there was an acute onset of increased vocalization during the injection and/or castration procedure. Moreover, two additional blinded persons evaluated the recordings of defensive movements independently to ensure the reliability of the observer.

2.3.2. Handling Chute Behavior

To evaluate the navigation time according to Bilsborrow et al. [28], piglets passed through the handling chute after injection and castration, two hours after castration and one day after castration. The handling chute had a length of 1400 mm, width of 210 mm, height of 400 mm, two 70 mm hurdles (distance between the hurdles: 600 mm) and an open top to record the duration and quality of the run (Panasonic LUMIX DMC-FZ8, Matsushita Electric Industrial Co., Ltd., Osaka, Japan) (Figure 1). Additionally, a structured thermal mat was used as a base for the handling chute to avoid slipping. The navigation time was determined, based on the recordings, starting when the piglets began running and ending when all four limbs were over the last hurdle. Particular attention was paid to impairments of the locomotor activity (unsteady gait, stumble upon the hurdles, sitting/lying in the handling chute).

2.3.3. Postoperative Assessment

Piglets were weighed and wound healing was scored according to Zankl [29] (Table S 2) on days 1, 7, 14 and 21 after castration to assess the postoperative period up to day 21. Castration wounds were ranked on the basis of wound healing (0 = without specific findings (dry, fully closed

wound), 1 = minor findings (swelling, redness), 2 = open wound), wound secretion (0 = no secretion, 1 = serous/bloody secretion, 2 = purulent secretion) and texture and size of the spermatic cord (0 = hardly palpable, 1 = up to 1 cm, soft to rough and elastic, 2 = stronger than 1cm, soft to rough and elastic, 3 = stronger than 1 cm, rough or fluctuating). The score was summed up for evaluation with a maximum of seven. Postoperative bleeding was quantified two hours after castration using a score adapted by Enz et al. [30] (Table S 3). The score ranged from 0 (no bleeding) to a maximum of 3 (severe bleeding, perineal area and hind limbs bloodstained). In addition, mortality was recorded until day 21 post castration.

2.4. Statistical Analysis

For the statistical analysis, all experimental groups were tested for age and weight on day of castration, defensive movements, vocalization, navigation time, wound healing, postoperative bleeding, and average daily weight gain. The distribution of all continuous parameters was tested using Shapiro–Wilk normality test. For non-normally distributed parameters defensive movements, wound healing and postoperative bleeding a Kruskal–Wallis test was performed. Dunn test for multiple comparisons between the groups P, L, B, M, H and NaCl with Benjamin–Hochberg corrections followed the Kruskal–Wallis test. For normally distributed parameters (average daily weight gain) ANOVA was used with Student’s t-test for pairwise comparisons. Nonparametric bootstrap was used for obtaining confidence limits for the population mean without assuming normality. For mostly normal distributed parameters age and weight on day of castration a Mann–Whitney-U test was performed. Vocalization was analyzed using pairwise Fisher’s tests with Benjamin–Hochberg corrections. Navigation time was analyzed using mixed-effects linear model due to the presence of repeated measures, with time, group and interaction between them as fixed effects and a random effect of individual piglet. Due to the non-normality and heteroscedasticity of the residuals, the response variable was log-transformed.

Statistical significance was considered at $p < 0.05$. These statistical analyses were performed using R statistical software version 3.6.1, mainly

with “ggstatsplot” [31], “lme4” [32] and “emmeans” [33] packages and IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). For the score used to evaluate the defensive movements, the Intraclass Correlation Coefficients (ICC) and their 95% confident intervals were calculated using IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0, based on mean rating, absolute agreement and 2-way mixed-effects model. The ICC values ranged between 0 and 1, with values closer to 1 representing stronger reliability.

3. Results

Day of castration varied between third and seventh day of life (dl) of the piglets and the mean age of the groups differed between 4.75 ± 0.97 dl (Mean \pm standard deviation (SD)) in group NaCl and 5.58 ± 1.40 dl in group M at castration day ($p \geq 0.05$). Mean body weight on day of castration differed significantly between piglets of group M (2.53 ± 0.59 kg) and groups L (2.08 ± 0.44 kg) ($p < 0.05$) and numerically between group M and B (2.09 ± 0.42 kg) ($p < 0.1$) (Table 2).

Table 2: Mean values and standard deviation of age and body weight on day of castration.

Group	Age on Day of Castration		Weight on Day of Castration	
	Mean Value	SD	Mean Value	SD
procaine n = 12	5.00 dl	± 0.95	2.23 kg	± 0.44
lidocaine n = 12	5.58 dl	± 0.90	2.08 kg ^a	± 0.44
bupivacaine n = 12	5.17 dl	± 1.27	2.09 kg	± 0.42
mepivacaine n = 12	5.58 dl	± 1.34	2.53 kg ^b	± 0.59
NaCl n = 12	4.75 dl	± 0.97	2.14 kg	± 0.44
handling n = 11	5.09 dl	± 0.94	2.32 kg	± 0.45

Differing superscripts within a column indicate significant ($p < 0.05$) differences between groups; n = animals; dl = day of life; SD = standard deviation.

3.1. Defensive Behavior

The Intraclass Correlation Coefficients (ICCs) for the evaluation of the defensive movements according to the modified score of Leidig et al. [10] were 0.97 (confidence interval (CI): 0.95–0.98) for injection, 0.96 (CI: 0.94–0.98) for skin incision and 0.98 (CI: 0.97–0.99) for severing of the spermatic cord. As shown in Figure 2, during injection, only group B showed significantly more defensive movements compared to groups H and L.

Among the other groups, no significant difference could be detected during the injection. During skin incision groups L, M and H showed significantly fewer defensive movements compared to group NaCl. In groups P and B, no significant difference was found compared to group NaCl. Groups NaCl and P showed significantly more defensive movements compared to group H during skin incision. No significant difference was found between group B and the other groups during skin incision. The highest mean score of defensive movements was found in group NaCl during the severing of the spermatic cord. Regarding the severing of the spermatic cord, all local anesthetic groups (P, L, B, and M) and group H showed significantly fewer defensive movements compared to group NaCl. Apart from this, no differences among the groups were found during the severing of the spermatic cord.

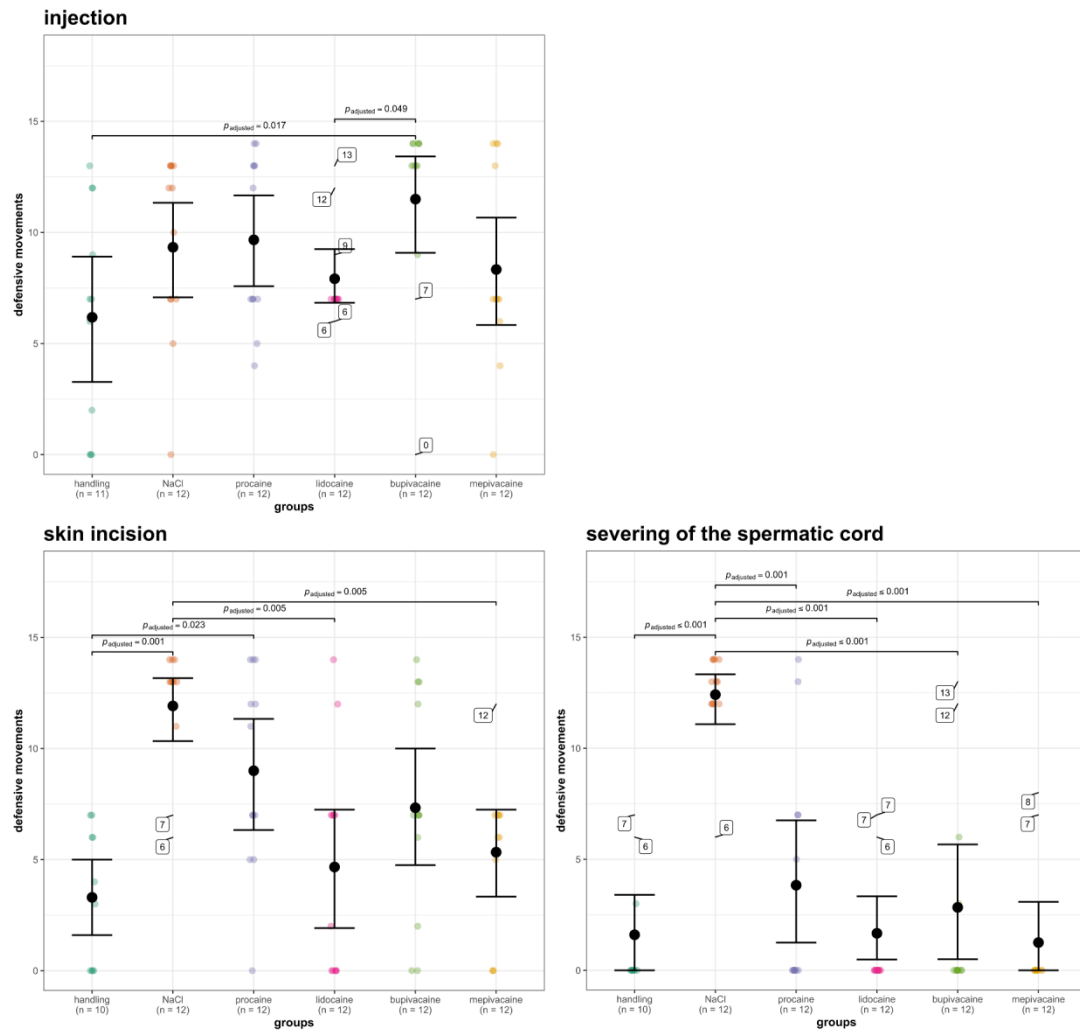


Figure 2: Mean values, confidence intervals and p -values of the score used to evaluate the defensive movements in different groups during injection, skin incision and severing of the spermatic cord; outliers were calculated using Tukey's method and were tagged on the picture with a value instead of the data point to avoid clutter.

During injection, no significant difference was found among the groups regarding vocalization. Three of the 10 piglets in group H showed an acute onset of increased vocalization during sham skin incision and sham severing of the spermatic cord in contrast to 11 of 12 piglets in group NaCl ($p < 0.05$), as shown in Table 3. During the severing of the spermatic cord, one piglet in group M showed an acute onset of increased vocalization in contrast to 11 in group NaCl ($p < 0.05$).

Table 3: Number of piglets with increased vocalization/number of piglets per group during injection, skin incision and severing spermatic cord.

Group	Number of Piglets with Increased Vocalization		
	Injection	Skin Incision	Severing Spermatic Cord
handling	6/10	3/10 ^a	3/10 ^a
NaCl	10/12	11/12 ^b	11/12 ^b
procaine	11/12	9/12	6/12
lidocaine	9/12	6/12	3/12
bupivacaine	10/12	9/12	3/12
mepivacaine	8/12	8/12	1/12 ^a
<i>p</i>	n.s.	<0.05	<0.05

Differing superscripts within a column indicate significant ($p < 0.05$) differences between groups; n.s. = not significant.

3.2. Handling Chute Behavior

3.2.1. Navigation Time

As shown in Table 4, the baseline of navigation time of the groups differed between 5.5 ± 2.3 s (S) (mean \pm SD) (NaCl) and 7.6 ± 4.1 s (L) ($p \geq 0.05$). After injection, group M passed through the handling chute within 3.8 ± 1.8 s (fastest) and group L within 9.4 ± 7.6 s (slowest) ($p < 0.05$). After castration, the fastest navigation time was measured for group M with 3.5 ± 1.25 s and the slowest for group B with 8.9 ± 11.47 s ($p < 0.05$). Two hours after castration, group M navigated the handling chute within 2.4 ± 0.51 s, significantly faster than groups L (5.0 ± 5.41 s), B (4.5 ± 2.3 s) and P (4.1 ± 1.4 s) ($p < 0.05$). Regarding the navigation time, no significant difference between control groups NaCl and H could be detected at any time ($p \geq 0.05$).

Table 4: Mean values and standard deviation of navigation time in seconds of the piglets through the handling chute according to Bilsborrow et al. [28] in different groups before injection, after injection, after castration, two hours after castration and one day after castration.

Group	Injection		Castration		
	Before ¹	After	After	2 h After	1 Day After
Procaine	6.02	5.39	6.78	4.12	3.38
n = 12	± 3.90	± 3.12	± 2.78 ^a	± 1.40 _b	± 0.74
Lidocaine	7.64	9.50	6.40	4.97	4.45
n = 12	± 4.07 ^x	± 7.56 _a	± 4.40	± 5.41 ^x _b	± 2.75 ^x
Bupivacaine	6.46	5.90	8.97	4.51	4.56
n = 12	± 2.79	± 3.76 ^x	± 11.47 ^x	± 2.29 _b	± 2.33
Mepivacaine	5.86	3.82	3.49	2.41	3.21
n = 12	± 2.26	± 1.79 _b	± 1.25 _b	± 0.51 _a	± 1.18
NaCl	5.53	4.51	4.13	3.70	2.85
n = 12	± 2.26 ^x	± 1.39	± 1.11 ^x	± 1.57 ^x	± 0.56 ^x
Handling	6.09	4.61	5.39	3.24	3.88
n = 11	± 1.96	± 1.36	± 3.97	± 0.99 ^{xx}	± 2.13
p	n.s.	<0.05	<0.05	<0.05	n.s.

Differing subscripts within a column indicate significant ($p < 0.05$) differences between groups; n = animals; ^x n = 11; ^{xx} = n = 10; ¹ mean value from three consecutive runs; h = hours; n.s. = not significant.

3.2.2. Locomotor Activity

As shown in Table 5, after injection, castration and two hours after castration, an impairment of the locomotor activity occurred in groups NaCl, L (two piglets in each case) and B (three piglets). Two piglets died one day after castration.

Table 5: Impairments of locomotor activity at different times of individual piglets.

Group	Piglet	Weight in kg	Injection				Castration	
			After		After		2 h After	1 Day After
NaCl ¹ n = 12	1	1.8			refusing the hurdles			
	2	2.9					not able to walk or stand	dead
L ² n = 12	1	1.85					not able to walk or stand	dead
	2	1.8			unsteady gait			
B ³ n = 12	1	1.4	tripping, lying, kyph. spine		tripping			
	2	2.35			unst. gait, ref. the hurdles			
	3	2.5	unsteady gait				unsteady gait	

¹ Injection of sodium chloride; ² injection of lidocaine; ³ injection of bupivacaine; n = animals/group; kyph. = kyphotic; unst. = unsteady; ref. = refusing; h = hours.

3.3. Postoperative Assessment

3.3.1. Wound Healing

One day after castration, one piglet in group B had a heightened wound healing score of three. On days 7, 14 and 21 after castration, the wound healing score of all piglets was below 3, without differing significantly between groups at any time.

3.3.2. Postoperative Bleeding

Piglets of group NaCl showed the slightest postoperative bleeding score (1.25 ± 1.42 (Mean \pm SD)). Postoperative bleeding scores of the local anesthetic groups were 2.08 ± 0.97 (P), 1.75 ± 1.42 (L), 1.67 ± 1.38 (B) and 2.08 ± 1.38 (M). No significant differences were found between the local anesthetic groups or between any of the local anesthetic groups and group NaCl.

3.3.3. Mortality Rate and Average Daily Weight Gain

In total, three (4.2%) of 71 piglets died during the trial period from castration day until weaning. Two of them were from the same litter and died the same day after castration (groups NaCl and L). The piglet injected

with lidocaine was examined histopathologically. The autopsy showed a severe hemorrhage into the abdomen. The histological examination of the lungs showed a hemorrhagic and necrotizing pneumonia. Another piglet (group NaCl) died between days two and seven after castration due to crushing by the sow.

No effect of treatment was found on average daily weight gain (ADW). The ADW of the piglets ranged between 0.131 and 0.353 kg, except for one outlier (0.075 kg) in group NaCl. Between groups, ADW differed between 0.195 ± 0.049 kg (Mean \pm SD) in group L and 0.247 ± 0.036 kg in group M.

4. Discussion

Several studies have already been conducted on local anesthesia as an alternative to piglet castration without anesthesia but they differed in study designs, local anesthetics used and yielded heterogeneous results [8–13]. This second part of a comprehensive study examined the four local anesthetics, procaine, lidocaine, bupivacaine and mepivacaine, in conscious piglets during castration in the first week of life. Part one of the comprehensive study showed that the intratesticular injection with a subcutaneous depot of a local anesthetic prior to castration reduces nociception-related cardiovascular responses and limb movements in piglets under anesthesia [21].

Similar to Leidig et al. [10] and Rauh et al. [13], we used defensive movements as a suitable parameter to evaluate pain responses in conscious piglets. In the present study, the ICC values for the score used to evaluate defensive movements were more than 0.9 for “injection”, “skin incision” and “severing of the spermatic cord”, which indicates an excellent Interrater Reliability [34].

The highest mean score of defensive movements occurred in group NaCl (castration without anesthesia) during severing of the spermatic cord. This is in line with the findings of Rauh et al. [13] and thus it confirms the suggestion based on the vocalization of Taylor and Weary [35] that pulling and severing of the spermatic cords are the most painful components of castration. Almost the same score was observed in group NaCl during skin incision, which is consistent with several studies that the whole castration procedure without anesthesia causes severe pain [8,10,35,36]. Prior

studies showed, based on defensive movements, that the application of lidocaine intratesticularly and subscrotally reduces pain responses during the castration procedure [9,13]. In the present study, the injection of procaine, lidocaine, bupivacaine or mepivacaine led to a significant reduction in defensive movements compared to castration without anesthesia during the severing of the spermatic cord, whereas during skin incision a significant reduction was observed only after the injection of lidocaine or mepivacaine. An explanation for the different effects of local anesthesia on skin incision and severing of the spermatic cord could be that with the subscrotal and intratesticular applicated depots used in the present study, the local anesthetics did not readily diffuse into the skin. Ranheim et al. [37] discovered, through autoradiograms, that radiolabeled lidocaine injected into the testis and subcutaneously into the scrotum does not readily diffuse through the tunica vaginalis. However, the assumption that the local anesthetics did not readily diffuse into the skin does not explain the different extent of the reduction in defensive movements between local anesthetics during skin incision. The injection of lidocaine and mepivacaine led to a significant reduction in defensive movements during skin incision, while procaine and bupivacaine application did not. Another possible explanation lies in the physiochemical properties of the used local anesthetics. Local anesthetics are weak bases and thus exist in equilibrium between the neutral, non-ionized, lipid-soluble and the ionized, water-soluble form. The position of equilibrium can be defined using pK_a . The pK_a of a molecule represents the pH at which 50% exists in the non-ionized (lipid-soluble) and 50% in the ionized form (water-soluble) [38]. The main access of local anesthetics to the cell is by penetration of the lipophilic neutral form through the lipid membrane [14,39]. Therefore, a local anesthetic with a low pK_a (mepivacaine: 7.72; lidocaine: 7.77; bupivacaine: 8.1; procaine: 8.89) will have a greater proportion of the non-ionized lipid-soluble form at physiological pH, resulting in better diffusion into the surrounding tissue and a more rapid onset of action. Moreover, the relative anesthetic potency is of importance as well. The main determinant of local anesthetic potency is the lipid solubility [40,41]. However, we could not prove that the local anesthetic with the highest lipid solubility and the highest relative anesthetic potency,

in this case bupivacaine, produced the greatest reduction in pain related behavior. According to these results, we assume that the spermatic cord was anesthetized more efficiently than the scrotal skin. For future research, optimizing the application method is needed to improve the anesthesia of the scrotal skin.

To evaluate pain caused by the injection, irrespective of the acidity of local anesthetic solutions, sodium chloride (NaCl) was injected into the testicles of the piglets castrated without anesthesia. In the present study, piglets that received an intratesticular and subscrotal injection tended to have higher scores of defensive movements and vocalization than piglets that were handled only (H). The lack of significance between the control groups H and NaCl could result from the stress and fear provoked by the fixation of the piglet in a supine position and the fixation of the testicles, which may have overlapped the defensive behavior caused by the injection. Moreover, piglets injected with bupivacaine showed significantly more defensive movements than piglets injected with lidocaine or piglets that were only fixated. However, this result is contradictory to the assumption that the pain induced by injection of local anesthetics is believed in part to be related to the acidity, since Bupivacain 0.5% with epinephrine 0.0005% JENAPHARM® (mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany) and Xylocitin® 2% (mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany) with epinephrine 0.001% have the same pH. The results of the present study indicate that the injection of bupivacaine seemed to be painful itself. Additionally, the sole fixation of the testicles might induce defensive movements, as seen in the handling group, but to a lesser extent compared to injecting any substances.

Weary et al. [23] validated vocal measures as a reliable indicator of acute pain due to castration. Several studies confirmed that the vocalization of piglets castrated without anesthesia differs from piglets that were sham castrated [24] or castrated with anesthesia [8,25,26]. White et al. [25] assessed vocalization during the castration procedure of piglets with frequency of highest energy (HEF). Weary et al. [23], Taylor et al. [24] and Puppe et al. [27] used high frequency calls. In contrast, Marx et al. [26] classified calls during castration into three different call types (grunt, squeal, scream) and demonstrated that piglets castrated without

anesthesia produced almost twice as many screams as piglets castrated with local anesthesia. It is necessary to mention that, in their studies, for the recordings of the vocalization separate rooms were used to prevent interfering noises [23,26,27]. Furthermore, collected data were elaborately analyzed with special programs [23–27]. In the present study, vocalizations were recorded in the nursery and not in a separate room, so the occurrence of interfering noises could not be prevented. As a practicable method to assess vocalization, despite the interfering noises, an acute onset of increased vocalization, comparable with the call type “scream” was evaluated in the present study, in orientation to the classification of Marx et al. [26]. Since no computer program was used for the evaluation of the vocalization in the present study, it is difficult to compare the results with prior studies. Nonetheless the results obtained are similar to former studies [8,10,23–26,35]. Piglets castrated without anesthesia (NaCl) reacted significantly more often with an acute onset of increased vocalization compared to piglets that were handled (H). In contrast to Marx et al. [26] and Kluivers-Poodt et al. [8] no significant difference occurred between the control groups and piglets castrated with local anesthesia during the castration procedure, with the exception of piglets injected with mepivacaine during the severing of the spermatic cord. This could be due to the used measurement of vocalization in the present study and the resulting lower sensitivity.

The navigation time through the handling chute was determined with the assumption that the presence of pain would result in longer navigation times [13,28]. According to Bilsborrow et al. [28], piglets castrated without anesthesia had a significantly longer navigation time through a handling chute 0 and 15 min after castration than sham castrated piglets [28]. Davis et al. [42] and Rauh et al. [13] validated these results. However, no significant difference regarding navigation time was found between control groups castrated without anesthesia and sham castrated in the present study. In contrast, piglets injected with mepivacaine had a significantly shorter navigation time after injection, castration and two hours after castration, possibly because of significant weight differences. Piglets injected with mepivacaine were significantly heavier. The significant differences regarding the weight on day of castration could be

caused by the small number of piglets. Since no significant difference was found between both control groups in the present study, the handling chute was not suitable to assess pain objectively following castration in the present study. However, the recordings were not only used to measure navigation time, but also to get evidence of impairments of locomotor activity. The impairments occurred, as shown in Table 5, as an unsteady gait, kyphotic spine, tripping, sitting or lying in the handling chute or refusing the hurdles. Two piglets injected with bupivacaine showed such impairments after injection. This is in line with the results of defensive movements, where piglets injected with bupivacaine showed the highest score during injection. However, we could not explain these results. Furthermore, after castration, one piglet injected with sodium chloride, one piglet injected with lidocaine and two piglets injected with bupivacaine showed impairments. In addition, one piglet injected with bupivacaine showed an impairment two hours after castration. The impairments of individual piglets of groups NaCl, L and B after castration could be explained by pain itself. Moreover, local anesthetics could cause side effects, such as impairments of locomotor activity. Since every piglet was injected with a standardized dosage of local anesthetic regardless of its weight, an overdose in lighter piglets might be conceivable. Furthermore, it is possible that heavier piglets had a loss of effectiveness, although we could not observe an effect. However, the piglets concerned were not among the lightest. Further studies are necessary to investigate how different dosages, based on individual weights, influence the effectiveness of local anesthesia and the occurrence of side effects. Moreover, an inadvertent intravenous injection of the local anesthetics could result in central nervous system and cardiovascular toxicity. Lipid-soluble local anesthetics—i.e., bupivacaine followed by lidocaine or mepivacaine—are more potent and therefore cause more systemic toxicity than less lipid-soluble agents, such as procaine, which is described with a minimal potential for systemic toxicity [14]. Two piglets of the same litter (group NaCl and group L) stood out when they were supposed to complete the handling chute two hours after castration. Their general condition was severely disturbed two hours after castration and they were unable to walk or stand. Both piglets died the same day. Prior studies on local anesthesia,

which applied lidocaine [8,9,12,15] or procaine [15], did not show any effect on mortality due to local anesthesia. Bonastre et al. [12] also did not show any effect on mortality caused by the local anesthetics, lidocaine and bupivacaine. Prior to the present study, no data were available on the mortality of piglets that were injected with the local anesthetic mepivacaine prior to castration. In the present study, the deceased lidocaine injected piglet was examined histopathologically. The autopsy showed a severe hemorrhage into the abdomen, probably associated with an increased bleeding propensity. Furthermore, we cannot exclude that the severe hemorrhage into the abdomen could have been caused by the surgical castration itself. The histology of the lungs showed a hemorrhagic and necrotizing pneumonia, which is most likely compatible with an infarction. Thus, in addition to the bleeding-induced loss of procoagulatory substances, an iatrogenic introduction of local anesthetic into the bloodstream with thrombus formation and a pronounced cardiotoxicity should also be considered. Since one piglet of group NaCl died as well, and both piglets were from the same litter, it is more likely that a coagulopathy may have caused their death. Unrestricted locomotor activity, especially in suckling piglets, is essential in order to avoid losses for example due to crushing by the sow. Moreover, it can be a sign of side effect of the injected bupivacaine or lidocaine. Further research is needed to investigate if it is possible to reduce the dosage without reducing the effect of the anesthesia.

As described by Hofmann et al. [15] and Zankl et al. [43], local anesthetics have no impact on wound healing after castration. In the present study, only one piglet injected with bupivacaine showed a heightened score one day after castration. This piglet defecated during castration, which possibly led to a contamination of the wound and consequently to an increased wound score, demonstrating that the castration should be performed as sterile as possible.

In the present study piglets were castrated only using a scalpel and no severe postoperative bleeding occurred in the scrotal area. The use of local anesthetics did not influence bleeding score two hours after castration, though local anesthetics contain different amounts of epinephrine or none (Mepidor 20 mg/mL). It was noticed that piglets castrated without any pain relief ranked the lowest considering postoperative bleeding. An

explanation could be that, due to the pain caused by castration without pain relief, the adrenaline, which was released from adrenal glands, led to a greater vasoconstriction than the epinephrine, which is contained in the drugs. Moreover, neither castration without anesthesia nor castration with local anesthesia had a negative impact on daily growth performance until 21 days after castration. This is in line with the findings of Kluivers-Poodt et al. [8] and Bonastre et al. [12], who described that neither anesthetics nor meloxicam have an effect on mortality or growth performance in piglets. In contrast, Telles et al. [44] demonstrated that the use of local anesthetic prior to castration appears to have positive effects on long-term weight gain of pigs. Whether local anesthesia has an influence on long-term weight gain could not be evaluated in the present study, because the weights of the animals were only recorded until the 21st day after castration.

Limitations of the present study are the different piglet ages and weights on day of castration, use of commercially available local anesthetic products with different concentrations of epinephrine or no epinephrine at all, and the fact that the dosage was based on volume and not on weight. Furthermore, the small sample size should be mentioned as a limitation of the study.

5. Conclusions

It can be concluded that the local anesthetics lidocaine and mepivacaine were able to achieve significant pain relief during skin incision and during severing of the spermatic cord under standardized conditions in conscious piglets. The subscrotally and intratesticularly applied local anesthetics procaine and bupivacaine could only relieve pain significantly during severing of the spermatic cord but not during skin incision. Moreover, due to the significantly higher occurrence of defensive movements the intratesticular and subscrotal injection of bupivacaine seemed to cause pain itself. Nonetheless, impairments of locomotor activity after the application of lidocaine, bupivacaine and sodium chloride occurred. Injection of the local anesthetics did not cause negative impacts on general condition, wound healing, weight gain or bleeding of the piglets after castration.

Supplementary Materials: The following are available online at www.mdpi.com/xxx/s1, Table S 1: Score used to evaluate the defensive movements according to Leidig et al. [10] during injection, skin incision and severing of the spermatic cord; Table S 2: Score used to evaluate the castration wounds according to Zankl [29]; Table S 3: Score used to evaluate the postoperative bleeding according to Enz et al. [30].

Author Contributions: Conceptualization, S.Z., S.S., C.W., C.B. and S.B.; methodology, N.A., S.S., P.D., R.M., A.G., J.W., A.M.S., J.F. and J.R.; validation, N.A., S.Z., S.S. and P.D.; formal analysis, Y.Z. and N.A.; investigation, N.A., S.S., P.D., S.Z., J.W. and A.M.S.; resources, M.R., C.B. and M.H.E.; data curation, N.A., S.S. and S.Z.; writing - original draft preparation, N.A.; writing - review and editing, S.Z., S.S., P.D., S.B., C.B., A.M.S., J.R. and R.M.; visualization, N.A., S.Z. and Y.Z.; supervision, S.Z., S.B. and C.B.; project administration, S.Z. and C.B.; funding acquisition, M.R., S.Z., M.H.E. and C.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the German Federal Ministry of Food and Agriculture (BMEL, <https://www.bmel.de>) based on a decision of the Parliament of the Federal Republic of Germany, granted by the Federal Office for Agriculture and Food (BLE, <https://www.ble.de>, grant number: 2817HS016, 2817HS013).

Acknowledgments: The authors thank the staff of the research facility of the Technical University of Munich for their support by conducting the project and ahk Service & Solutions GmbH for the illustration of the handling chute. In addition, the financial support of the Cost action CA15215 IPEMA to cover the article processing charges of this paper is greatly acknowledged.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

6. References

1. Fredriksen, B.; Font, I.F.M.; Lundstrom, K.; Migdal, W.; Prunier, A.; Tuytens, F.A.; Bonneau, M. Practice on castration of piglets in Europe. *Animal* **2009**, *3*, 1480–1487, doi:10.1017/s1751731109004674.
2. Rydhmer, L.; Zamaratskaia, G.; Andersson, H.; Algers, B.; Guillemet, R.; Lundström, K. Aggressive and sexual behaviour of growing and finishing pigs reared in groups, without castration. *Acta Agric. Scand. A Anim. Sci.* **2006**, *56*, 109–119, doi:10.1080/09064700601079527.
3. Barton-Gade, P.A. Meat and fat quality in boars, castrates and gilts. *Livest. Prod. Sci.* **1987**, *16*, 187–196, doi:10.1016/0301-6226(87)90019-4.
4. Bünger, B.; Schrader, L.; Schrade, H.; Zacharias, B. Agonistic behaviour, skin lesions and activity pattern of entire male, female and castrated male finishing pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2015**, *171*, 64–68, doi:10.1016/j.applanim.2015.08.024.
5. De Briyne, N.; Berg, C.; Blaha, T.; Temple, D. Pig castration: Will the EU manage to ban pig castration by 2018? *Porcine Health. Manag.* **2016**, *2*, doi:10.1186/s40813-016-0046-x.
6. Official Journal of the European Union. COUNCIL DIRECTIVE 2008/120/EC of 18 December 2008 Laying down Minimum Standards for the Protection of Pigs. Available online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32008L0120&from=EN> (accessed on 19 August 2020).
7. Federal Ministry of Justice and Consumer Protection. Tierschutzgesetz. Available online: <https://www.gesetze-im-internet.de/tierschg/BJNR012770972.html> (accessed on 19 August 2020).
8. Kluivers-Poodt, M.; Houx, B.B.; Robben, S.R.M.; Koop, G.; Lambooij, E.; Hellebrekers, L.J. Effects of a local anaesthetic and NSAID in castration of piglets, on the acute pain responses, growth and mortality. *Animal* **2012**, *6*, 1469–1475, doi:10.1017/S1751731112000547.

9. Hansson, M.; Lundeheim, N.; Nyman, G.; Johansson, G. Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Vet. Scand.* **2011**, *53*, 34, doi:10.1186/1751-0147-53-34.
10. Leidig, M.S.; Hertrampf, B.; Failing, K.; Schumann, A.; Reiner, G. Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2009**, *116*, 174–178, doi:10.1016/j.applanim.2008.10.004.
11. Perez-Pedraza, E.; Mota-Rojas, D.; Ramirez-Necoechea, R.; Guerrero-Legarreta, I.; Martinez-Burnes, J.; Lezama-Garcia, K.; Mora-Medina, P.; Rosas, M.; Martinez, V.; Gonzalez-Lozano, M. Effect of the number of incisions and use of local anesthesia on the physiological indicators of surgically-castrated piglets. *Int. J. Vet. Sci. Med.* **2018**, *6*, 159–164, doi:10.1016/j.ijvsm.2018.10.002.
12. Bonastre, C.; Mitjana, O.; Tejedor, M.T.; Calavia, M.; Yuste, A.G.; Ubeda, J.L.; Falceto, M.V. Acute physiological responses to castration-related pain in piglets: The effect of two local anesthetics with or without meloxicam. *Animal* **2016**, *10*, 1474–1481, doi:10.1017/s1751731116000586.
13. Rauh, A.; Hofmann, K.; Harlizius, J.; Weiss, C.; Numberger, J.; Scholz, T.; Schulze-Horsel, T.; Otten, W.; Ritzmann, M.; Zöls, S. Pain and distress response of suckling piglets to injection and castration under local anaesthesia with procaine and lidocaine—Part 2: Defence behaviour, catecholamines, coordination of movements. *Tierarztl. Prax. Ausg. G Grosstiere Nutztiere* **2019**, *47*, 160–170, doi:10.1055/a-0866-6694.
14. Garcia, E.R. Local anesthetics. In *Veterinary Anesthesia and Analgesia: The Fifth Edition of Lumb and Jones*, 5th ed.; Grimm, K.A., Lamont, L.A., Tranquilli, W.J., Greene, S.A., Robertson, S.A., Eds.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2015; pp. 332–354.
15. Hofmann, K.; Rauh, A.; Harlizius, J.; Weiss, C.; Scholz, T.; Schulze-Horsel, T.; Escribano, D.; Ritzmann, M.; Zöls, S. Pain and distress responses of suckling piglets to injection and castration under local anaesthesia with procaine and lidocaine—Part 1: Cortisol,

- chromogranin A, wound healing, weights, losses. *Tierarztl. Prax. Ausg. G Grosstiere Nutztiere* **2019**, 47, 87–96, doi:10.1055/a-0861-9640.
16. Prunier, A.; Mounier, A.; Hay, M. Effects of castration, tooth resection, or tail docking on plasma metabolites and stress hormones in young pigs. *J. Anim. Sci.* **2005**, 83, 216–222, doi:10.2527/2005.831216x.
17. Zoels, S.; Ritzmann, M.; Heinritzi, K. Effect of analgesics on the castration of male piglets. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* **2006**, 119, 193–196.
18. Schwab, S.; Follrich, B.; Kurtev, V.; Keita, A. Ketoprofen-practical use and efficacy for post-surgical analgesia in piglet castration. *Tierarztl. Umsch.* **2012**, 67, 207–213.
19. Gottardo, F.; Scollo, A.; Contiero, B.; Ravagnani, A.; Tavella, G.; Bernardini, D.; De Benedictis, G.; Edwards, S. Pain alleviation during castration of piglets: A comparative study of different farm options. *J. Anim. Sci.* **2016**, 94, 5077–5088, doi:10.2527/jas.2016-0843.
20. Marchant-Forde, J.; Lay Jr, D.; McMunn, K.; Cheng, H.W.; Pajor, E.; Marchant-Forde, R. Postnatal piglet husbandry practices and well-being: The effects of alternative techniques delivered separately. *J. Anim. Sci.* **2009**, 87, 1479–1492, doi:10.2527/jas.2008-1080.
21. Saller, A.M.; Werner, J.; Reiser, J.; Senf, S.; Deffner, P.; Abendschön, N.; Weiß, C.; Fischer, J.; Schörwerth, A.; Miller, R.; et al. Local anesthesia in piglets undergoing castration—A comparative study to investigate the analgesic effects of four local anesthetics on the basis of acute physiological responses and limb movements. *PLoS ONE* **2020**, 15, doi:10.1371/journal.pone.0236742.
22. Sheil, M.L.; Chambers, M.; Sharpe, B. Topical wound anaesthesia: Efficacy to mitigate piglet castration pain. *Aust. Vet. J.* **2020**, doi:10.1111/avj.12930.
23. Weary, D.M.; Braithwaite, L.A.; Fraser, D. Vocal response to pain in piglets. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **1998**, 56, 161–172, doi:10.1016/S0168-1591(97)00092-0.
24. Taylor, A.A.; Weary, D.M.; Lessard, M.; Braithwaite, L. Behavioural responses of piglets to castration: The effect of piglet age. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2001**, 73, 35–43, doi:10.1016/s0168-1591(01)00123-x.

25. White, R.G.; DeShazer, J.A.; Tressler, C.J.; Borchert, G.M.; Davey, S.; Waninge, A.; Parkhurst, A.M.; Milanuk, M.J.; Clemens, E.T. Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic. *J. Anim. Sci.* **1995**, *73*, 381–386, doi:10.2527/1995.732381x.
26. Marx, G.; Horn, T.; Thielebein, J.; Knubel, B.; Von Borell, E. Analysis of pain-related vocalization in young pigs. *J. Sound Vib.* **2003**, *266*, 687–698, doi:10.1016/S0022-460X(03)00594-7.
27. Puppe, B.; Schön, P.C.; Tuchscherer, A.; Manteuffel, G. Castration-induced vocalisation in domestic piglets, *Sus scrofa*: Complex and specific alterations of the vocal quality. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2005**, *95*, 67–78, doi:10.1016/j.applanim.2005.05.001.
28. Bilsborrow, K.; Seddon, Y.M.; Brown, J.; Waldner, C.; Stookey, J.M. An investigation of a novel behavioural test to assess pain in piglets following castration. *Can. J. Anim. Sci.* **2016**, *96*, 376–385, doi:10.1139/cjas-2015-0109.
29. Zankl, A. Untersuchungen zur Wirksamkeit und Gewebeverträglichkeit von Lokalanästhetika bei der Kastration männlicher Saugferkel. Ph.D. Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany, 20 July 2007.
30. Enz, A.; Schupbach-Regula, G.; Bettschart, R.; Fuschini, E.; Burgi, E.; Sidler, X. Experiences with pain control during piglet castration in Switzerland Part 1: Inhalation anesthesia. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* **2013**, *155*, 651–659, doi:10.1024/0036-7281/a000530.
31. Patil, I. (PATIL): 'ggplot2' Based Plots with Statistical Details. Available online: <https://CRAN.R-project.org/package=ggstatsplot> (accessed on 14 September 2020).
32. Bates, D.; Mächler, M.; Bolker, B.; Walker, S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* **2015**, *67*, doi:10.18637/jss.v067.i01.
33. Lenth, R.; Buerker, P.; Herve, M.; Love, J.; Riebl, H.; Singmann, H. Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. Available online: <https://github.com/rvlenth/emmeans> (accessed on 14 September 2020).

34. Koo, T.K.; Li, M.Y. A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. *J. Chiropr. Med.* **2016**, *15*, 155–163, doi:10.1016/j.jcm.2016.02.012.
35. Taylor, A.A.; Weary, D.M. Vocal responses of piglets to castration: Identifying procedural sources of pain. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2000**, *70*, 17–26, doi:10.1016/s0168-1591(00)00143-x.
36. Kluivers-Poodt, M.; Hopster, H.; Spoolder, H.A.M. *Castration under Anaesthesia and/or Analgesia in Commercial Pig Production*; 85; Animal Sciences Group: Wageningen, The Netherlands, 2007.
37. Ranheim, B.; Haga, H.A.; Ingebrigtsen, K. Distribution of radioactive lidocaine injected into the testes in piglets. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **2005**, *28*, 481–483, doi:10.1111/j.1365-2885.2005.00675.x.
38. Becker, D.E.; Reed, K.L. Essentials of local anesthetic pharmacology. *Anesth. Prog.* **2006**, *53*, 98–108, doi:10.2344/0003-3006(2006)53[98:Eolap]2.0.Co;2.
39. Zink, W.; Graf, B.M. Lokalanästhetika. In *Pharmakotherapie in der Anästhesie und Intensivmedizin*; Tonner, P.H., Hein, L., Eds.; Springer: Berlin, Germany, 2011; pp. 159–183.
40. Strichartz, G.R.; Sanchez, V.; Arthur, G.R.; Chafetz, R.; Martiny, D. Fundamental properties of local anesthetics. II. Measured octanol: Buffer partition coefficients and pKa values of clinically used drugs. *Anesth. Analg.* **1990**, *71*, 158–170.
41. Brau, M.E.; Vogel, W.; Hempelmann, G. Fundamental properties of local anesthetics: Half-maximal blocking concentrations for tonic block of Na⁺ and K⁺ channels in peripheral nerve. *Anesth. Analg.* **1998**, *87*, 885–889.
42. Davis, K.; Seddon, Y.; Creutzinger, K.; Bouvier, M.; Brown, J. An investigation into the use of sucrose to reduce castration pain in piglets. *Can. J. Anim. Sci.* **2017**, *97*, 439–447, doi:10.1139/cjas-2016-0170.
43. Zankl, A.; Ritzmann, M.; Zöls, S.; Heinritzi, K. The efficacy of local anaesthetics administered prior to castration of male suckling piglets. *DTW Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* **2007**, *114*, 418–422.

44. Telles, F.G.; Luna, S.P.L.; Teixeira, G.; Berto, D.A. Long-term weight gain and economic impact in pigs castrated under local anaesthesia. *Vet. Anim. Sci.* **2016**, 1-2, 36–39, doi:10.1016/j.vas.2016.11.003.

© 2020 by the authors. Submitted for possible open



access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

7. Supplementary Materials

Table S 1: Score used to evaluate the defensive movements according to Leidig, et al. [1] during injection, skin incision and severing of the spermatic cord.

parameter	score	description
intensity	0	no movements
	1	moving of one limb
	2	moving of two limbs
	3	moving of three limbs
	4	moving of all four limbs
duration	0	no movements
	1	one single movement
	2	repeated movements (2 – 4)
	3	continuous movements (> 4)

Table S 2: Score used to evaluate the castration wounds according to Zankl [2].

parameter	score	description
wound healing	0	without specific findings (dry, fully closed wound)
	1	minor findings (swelling, redness)
	2	open wound
wound secretion	0	no secretion
	1	serous / bloody secretion
	2	purulent secretion
texture and size of the spermatic cord	0	hardly palpable
	1	up to 1 cm, soft to rough and elastic
	2	stronger than 1 cm, soft to rough and elastic
	3	stronger than 1 cm rough or fluctuating

Table S 3: Score used to evaluate the postoperative bleeding according to Enz, et al. [3].

parameter	score	description
postoperative bleeding	0	no bleeding
	1	slight bleeding, dissemination < 2 cm
	2	severe bleeding, perineal area extensive bloody, dissemination > 2 cm
	3	severe bleeding, perineal area and hind limbs bloodstained

References

1. Leidig, M.S.; Hertrampf, B.; Failing, K.; Schumann, A.; Reiner, G. Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2009**, *116*, 174-178, doi:10.1016/j.applanim.2008.10.004.
2. Zankl, A. Untersuchungen zur Wirksamkeit und Gewebeverträglichkeit von Lokalanästhetika bei der Kastration männlicher Saugferkel. Diss. med. vet., Ludwig-Maximilians-University, Munich, 2007.
3. Enz, A.; Schupbach-Regula, G.; Bettschart, R.; Fuschini, E.; Burgi, E.; Sidler, X. Experiences with pain control during piglet castration in Switzerland Part 1: Inhalation anesthesia. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* **2013**, *155*, 651-659, doi:10.1024/0036-7281/a000530.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

V. ERWEITERTE ERGEBNISSE

Zusammenhang zwischen Abwehrbewegungen und Vokalisation

Zwischen den Parametern des Abwehrverhaltens (Abwehrbewegungen und Vokalisation) wurde jeweils ein starker Zusammenhang während der Injektion, dem Hautschnitt und der Samenstrangdurchtrennung festgestellt ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$). Das verwendete Modell hat eine starke Aussagekraft (conditional $R^2 = 0,60$) und der Teil, der sich auf die festen Effekte bezieht beträgt 51 % (marginal $R^2 = 0,51$). So zeigten Ferkel, welche auf den Eingriff (Injektion, Hautschnitt und Samenstrangdurchtrennung) mit einem Aufschrei reagierten, mehr Abwehrbewegungen, als solche die nicht mit einem Aufschrei reagierten (siehe Abbildung 2).

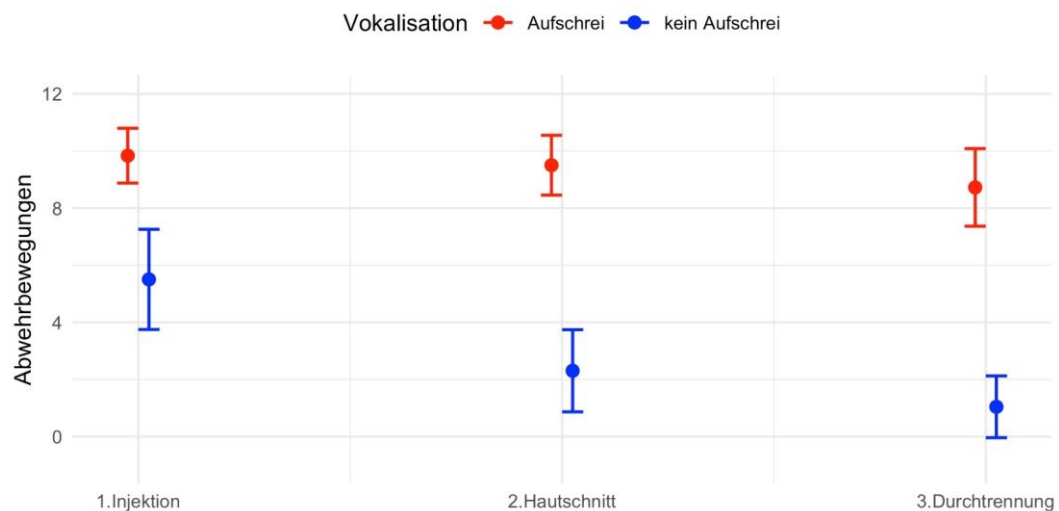


Abbildung 2: Zusammenhang der Abwehrbewegungen und der Vokalisation zum Zeitpunkt der Injektion, dem Hautschnitt und der Samenstrangdurchtrennung.

VI. ERWEITERTE DISKUSSION

Seit dem 01. Januar 2021 ist die betäubungslose Saugferkelkastration in Deutschland verboten (TierSchG, 2020). Aktuell stehen in Deutschland zwei Methoden zur Betäubung während des Eingriffes zur Verfügung (BMEL, 2020a): die Injektionsnarkose in Form einer Neuroleptanalgesie mit einer Wirkstoffkombination aus Ketamin und Azaperon und die Inhalationsnarkose mit Isofluran (BMEL, 2020a). Bei beiden Methoden handelt es sich um eine Allgemeinanästhesie, bei der nicht nur die Empfindungs- sondern auch die Sinneswahrnehmung aufgehoben wird (LÖSCHER, 2014a). Infolge der Injektionsanästhesie können Thermoregulationsstörungen auftreten (KMIEC, 2005; LAHRMANN et al., 2006; ENZ et al., 2013b) sowie, verursacht durch eine lange Nachschlafphase, eine Abstinenz von bis zu vier Milchmahlzeiten (LAHRMANN et al., 2006). Bei der Inhalationsnarkose ist die mit zunehmender Narkosetiefe einhergehende atemdepressive und hypotensive Wirkung von Isofluran zu berücksichtigen (LÖSCHER, 2014a). Im Gegensatz dazu führt die Lokalanästhesie nur zu einer regionalen Ausschaltung des Schmerzempfindens (LÖSCHER, 2014b) ohne Beeinträchtigung der Sinneswahrnehmung und ist deshalb als weitere Methode von hohem Interesse. Bislang ist die Lokalanästhesie als Verfahren zur Betäubung der chirurgischen Kastration von Saugferkeln in Deutschland nicht zugelassen (BMEL, 2020b). In anderen europäischen Ländern wie Norwegen, Schweden und Dänemark findet die Lokalanästhesie allerdings schon seit einigen Jahren Anwendung (DE BRIYNE et al., 2016; SKADE et al., 2021). Bezüglich der Wirksamkeit von Lokalanästhetika zur Schmerzausschaltung bei der Ferkelkastration wurden bereits zahlreiche Studien mit sehr heterogenen Resultaten durchgeführt. Jedoch sind diese schwer zu vergleichen, da sie sich in ihrem Studienaufbau, den verwendeten Lokalanästhetika, der Dosierung sowie der Applikationsweise unterscheiden (LEIDIG et al., 2009; HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012; BONASTRE et al., 2016; PEREZ-PEDRAZA et al., 2018; HOFMANN et al., 2019; RAUH et al., 2019). Infolgedessen reicht der wissenschaftliche Kenntnisstand nicht aus,

um zuverlässig Rückschlüsse hinsichtlich Durchführung und Wirksamkeit der Lokalanästhesie zur Schmerzausschaltung bei der Ferkelkastration in Deutschland ziehen zu können.

Als zweiter Teil einer übergeordneten Studie zur Evaluierung und Optimierung der Schmerzausschaltung durch Lokalanästhesie bei der Saugferkelkastration war das Ziel der vorliegenden Untersuchung, den Effekt von vier Lokalanästhetika hinsichtlich ihrer schmerzreduzierenden Wirkung unter standardisierten Bedingungen an wachen Ferkeln zu vergleichen. Zusätzlich sollten mögliche Nebenwirkungen der Lokalanästhetika erfasst werden. Im ersten Teil der übergeordneten Studie konnte gezeigt werden, dass die intratestikuläre und subskrotale Applikation eines Lokalanästhetikums vor der Kastration kardiovaskuläre Reaktionen sowie Gliedmaßenbewegungen als Antwort auf die Kastration bei Ferkeln unter Narkose reduzieren konnte (SALLER et al., 2020).

Um valide Rückschlüsse hinsichtlich der Wirksamkeit der Lokalanästhetika zu erlangen, wurden in der vorliegenden Studie Abwehrbewegungen und Vokalisation der Ferkel erfasst. Wenngleich skalierte Daten, wie die Messung von ACTH, Katecholaminen und Cortisol im Blut einen objektiv messbaren Informationsgehalt liefern, jedoch immer mit zusätzlichem Schmerz bzw. Stress verbunden sind, hat sich die Verwendung des bereits in vorherigen Studien erprobten Scores zur Evaluierung von Abwehrbewegungen (LEIDIG et al., 2009; RAUH et al., 2019) in diesem Studiendesign bewährt. Die Berechnung des ICC für den Abwehrscore ergab für die Injektion (ICC 0,97), den Hautschnitt (ICC 0,96) und die Durchtrennung des Samenstranges (ICC 0,98) Werte, welche auf eine hervorragende Interrater-Reliabilität schließen lassen (KOO und LI, 2016). Ein weiterer zuverlässiger Parameter um akute Schmerzen während der Kastration zu messen ist die Vokalisation von Ferkeln (WEARY et al., 1998). Mehrere Studien bestätigen anhand von Lautanalysen, dass sich die Vokalisation von betäubungslos kastrierten und scheinkastrierten (TAYLOR und WEARY, 2000; MARCHANT-FORDE et al., 2009; SUTHERLAND et al., 2010) oder unter Lokalanästhesie kastrierten Ferkeln (WHITE et al., 1995; MARX et al., 2003; HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012) unterscheidet. Angelehnt an die Einteilung der

Ferkellaute in die drei Lauttypen von MARX et al. (2003) „Grunzen, Quietschen und Schreien“ wurde in der vorliegenden Studie das Auftreten eines Aufschreies während der Injektion, dem Hautschnitt und der Durchtrennung des Samenstranges verblindet bewertet. Auch wenn es sich hierbei um eine stark vereinfachte Messmethode im Vergleich zu den computergestützten Lautanalysen von WHITE et al. (1995), TAYLOR und WEARY (2000) und KLUIVERS-POODT et al. (2012) handelt, stellt der geringe apparative Aufwand und die vereinfachte Auswertung einen Vorteil dar. Darüber hinaus konnte in dieser Untersuchung trotz Hintergrundgeräuschen im Abferkelstall ein starker Zusammenhang zwischen den Abwehrbewegungen und der Vokalisation festgestellt werden. Weiterhin ist aus Sicht des Tierschutzes positiv zu bewerten, dass durch die hier angewendeten Messmethoden (Abwehrbewegungen und Vokalisation) kein invasiver Eingriff, wie die Blutentnahme (zur Messung von ACTH, Katecholaminen und Cortisol) am Tier vorgenommen werden musste.

Ein weiterer, ursprünglich angedachter Parameter zur objektiven Messung der Schmerzen von Saugferkeln nach der Kastration war die Navigationszeit durch einen Hindernislauf, angelehnt an BILSBORROW et al. (2016). Wenngleich, im Gegensatz zu den Studien von BILSBORROW et al. (2016), DAVIS et al. (2017) und RAUH et al. (2019) in der vorliegenden Studie zu keinem Zeitpunkt nach der Injektion oder nach der Kastration Unterschiede in den Kontrollgruppen hinsichtlich ihrer Navigationszeit festgestellt werden konnten, erwiesen sich die Videoaufnahmen des Hindernislaufes als geeignet, um Nebenwirkungen in Form von Laufauffälligkeiten zu erfassen.

Um trotz der im Studiendesign verwendeten geringen Tierzahl, ein größtmögliches Maß an Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurde sowohl die Injektion als auch die Kastration standardisiert von geübten Tierärztinnen durchgeführt und die Auswertungen von nur einer Person vorgenommen. Sowohl die durchführenden Tierärztinnen als auch die auswertende Person waren, mit Ausnahme der Gruppe H, stets verblindet.

Schmerzassoziiertes Verhalten

Injektion

In Übereinstimmung mit WALDMANN et al. (1994), LEIDIG et al. (2009), RAUH et al. (2019) und SKADE et al. (2021) reagierten die Ferkel in der vorliegenden Studie auf die Injektion tendenziell mit mehr Abwehrbewegungen als nur gehandelte Tiere. LEIDIG et al. (2009) und SKADE et al. (2021) vermuten, dass dies auf die Stimulation mechanischer Nozizeptoren durch das Einstechen der Nadel und das Injektionsvolumen zurückzuführen ist. Als weiteren Grund für das gesteigerte Abwehrverhalten bei der Injektion von Lokalanästhetika nennen WALDMANN et al. (1994) und RAUH (2019) den niedrigen pH-Wert von lokalanästhetischen Lösungen. In der Literatur ist beschrieben, dass es durch einen niedrigen pH-Wert im Gewebe, über die Öffnung von speziellen säuresensitiven Ionenkanälen zur Stimulation chemischer Nozizeptoren kommt (SCHAIBLE, 2011). Dies wird durch die Ergebnisse von SKADE et al. (2021) gestützt, welche basierend auf den Abwehrbewegungen eine stärkere Belastung der Ferkel durch die Injektion von Procain [pH = 5- 6,5 (LARSEN, 2018)] im Vergleich zur Injektion von Lidocain [pH = 6,5 (LARSEN, 2018)] feststellten. Um den Injektionsschmerz unabhängig von der Azidität der lokalanästhetischen Lösungen zu beurteilen, wurde deshalb in der vorliegenden Studie 0,9 %iges Natriumchlorid, als Vergleich zu den sauren lokalanästhetischen Lösungen, in die Hoden der betäubungslos kastrierten Ferkel injiziert. Dabei konnten nur bei Ferkeln während der Injektion von Bupivacain signifikant mehr Abwehrbewegungen als bei Ferkeln, welchen Lidocain injiziert wurde oder die nur fixiert (Gruppe H) wurden, beobachtet werden. Dieses Ergebnis bestätigt nicht die Vermutung von WALDMANN et al. (1994) und RAUH (2019), dass der durch die Injektion von Lokalanästhetika induzierte Schmerz allein auf den pH-Wert der Lösungen zurückgeführt werden kann, da die in der vorliegenden Studie verwendeten Präparate Bupivacain 0,5 % mit Epinephrin 0,0005% JENAPHARM® (mibe GmbH Arzneimittel, Brehna) und Xylocitin® 2 % (mibe GmbH Arzneimittel, Brehna) laut Hersteller beide einen pH-Wert von 3,0 bis 5,0 aufweisen. In der Humanmedizin werden die Gründe für

die Schmerzen bei der Injektion von Lokalanästhetika ebenfalls auf das Einstechen der Kanüle, das Injektionsvolumen und die daraus resultierende Ausdehnung des umliegenden Gewebes sowie den niedrigen pH-Wert der lokalanästhetischen Lösungen zurückgeführt (BUSSELTON MEDICAL PRACTICE, 2018). Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Studie scheint allerdings nicht der niedrigere pH-Wert, sondern vielmehr das Injektionsvolumen von 2 ml (1 ml je Seite) und das Einstechen der Kanüle ursächlich für die vermehrten Abwehrbewegungen zu sein. Eine mögliche Erklärung für die geringen Unterschiede der Abwehrbewegungen während der Injektion zwischen der Gruppe Handling und den Gruppen Procain, Lidocain und Mepivacain könnte sein, dass der Stress und die Angst, verursacht durch die erstmalige Fixation der Ferkel in Rückenlage, die Kompression der Hoden sowie das Aufziehen der Hautfalte am Skrotum die schmerzassoziierten Abwehrbewegungen überlagert hat. Ähnlich schlussfolgert SCHULZ (2007) in ihrer Untersuchung zur Inhalationsnarkose, dass auch die Fixation ohne Narkose eine erhebliche Stressbelastung für die Tiere darstellt. Des Weiteren reagierten Ferkel der Gruppe Handling während der Injektion mit mehr Abwehrbewegungen als während der Kastration. Möglicherweise ist die zweite Fixation für die Ferkel der Gruppe H mit weniger Stress und Angst verbunden, weshalb sie mit weniger Abwehrbewegungen auf die Fixation reagieren. MARCHANT-FORDE et al. (2009) weisen in ihrer Studie darauf hin, dass sowohl die Abwehrbewegungen als auch die Vokalisation Parameter sind, die sich im Laufe eines Eingriffes aufgrund einer zunehmenden Passivität der Ferkel verringern können.

Bezüglich der Vokalisation konnten in der vorliegenden Studie während der Injektion keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen festgestellt werden. Auch in der Gruppe Handling reagierten mehr als die Hälfte der Ferkel auf die Fixierung der Hoden und das Aufziehen der Hautfalte am Skrotum mit einem Aufschrei. Dies bekräftigt die Vermutung, dass der durch die Handhabung und die Fixierung in Rückenlage ausgelöste Stress sowie die damit verbundene Angstsituation das schmerzassoziierte Verhalten überlagert. Des Weiteren

könnten die hier angewendete vereinfachte Messung der Vokalisation und die daraus resultierende geringere Sensitivität der Methode für die geringen Unterschiede ursächlich sein. Darüber hinaus reagierten in der Gruppe Handling doppelt so viele Ferkel während der Injektion mit einem Aufschrei im Vergleich zum Hautschnitt und der Samenstrangdurchtrennung. Dies stützt die Annahme, dass die zweite Fixation womöglich mit weniger Stress und Angst für die Ferkel der Gruppe H verbunden ist. Um die durch die Applikation von lokalanästhetischen Lösungen verursachten Schmerzen zu reduzieren stehen laut humanmedizinischer Literatur (STRAZAR et al., 2013) unter anderem das Erwärmen und Puffern der lokalanästhetischen Lösungen (MADER et al., 1994; COLARIC et al., 1998; HANNA et al., 2009), die Verwendung von Kanülen mit geringerem Durchmesser (PALMON et al., 1998; GILL und PRAUSNITZ, 2007) und eine möglichst langsame Applikation (ARNDT et al., 1983; SEROUR et al., 1998) zur Verfügung. Das Puffern der Lösungen mit Natriumbikarbonat stellt für die Lokalanästhesie bei der Saugferkelkastration keine praktikable Möglichkeit dar, da es sich dabei nach § 4 Abs. 14 Arzneimittelgesetz (2020) um eine Arzneimittelherstellung handeln würde. Diese darf nur vom Tierarzt durchgeführt werden, was die vom Gesetzgeber in Deutschland vorhergesehene Ausnahme der Anwendung der Lokalanästhesie durch den Landwirt somit ausschließen würde. Für eine höhere Stabilität und Löslichkeit und damit die Haltbarkeit der Präparate ist ein saurer pH nötig (MCKAY et al., 1987; GARCIA, 2015). Präparate mit bereits gepufferte lokalanästhetischen Lösungen sind laut aktuellem Kenntnisstandes weder in der Veterinärmedizin noch in der Humanmedizin verfügbar. Des Weiteren würde durch den Zusatz von Natriumbikarbonat das Injektionsvolumen erhöht werden. Eine langsame Applikation scheint ebenfalls nur schwer umsetzbar, da sich die Ferkel während der Injektion bewegen (WALDMANN et al., 1994; LEIDIG et al., 2009; RAUH et al., 2019; SKADE et al., 2021) und es den Eingriff und die damit verbundene Fixation noch verlängern würde. Gegenstand weiterer Studien zur Lokalanästhesie bei der Saugferkelkastration könnte sein, ob eine Volumenreduktion und die Verwendung von Kanülen mit geringerem Durchmesser zu einer Reduktion des Injektionsschmerzes führen ohne die Anästhesie zu

verschlechtern. Wobei eine dünnere Kanüle, als die in dieser Studie verwendete Kanüle mit einem Außendurchmesser von $< 0,5$ mm, das Risiko von abgebrochenen oder verbogenen Kanülen erhöhen würde. Zudem müsste die Applikationsgeschwindigkeit weiter reduziert werden.

Kastration

Während der Kastration wurden bei Ferkeln der betäubungslos kastrierten Gruppe die meisten Abwehrbewegungen beobachtet. Dies bestätigt die Ergebnisse vorheriger Studien (TAYLOR und WEARY, 2000; KLUIVERS-POODT et al., 2007; KLUIVERS-POODT et al., 2012), dass die Kastration ohne Anästhesie äußerst schmerzhaft ist. Übereinstimmend mit den Ergebnissen von RAUH et al. (2019) erreichten Ferkel der betäubungslos kastrierten Gruppe (NaCl) während der Durchtrennung des Samenstranges den höchsten Abwehrscore. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch SKADE et al. (2021), in deren Studie 94 % der betäubungslos kastrierten Ferkel mit Abwehrbewegungen auf die Samenstrangdurchtrennung reagierten. Vergleichend dazu reagierten nur 80 % der betäubungslos kastrierten Ferkel auf die Hautschnitte (SKADE et al., 2021). Dies bestätigt die Annahme von TAYLOR und WEARY (2000), dass, basierend auf der Vokalisation der Ferkel, der Zug und die Durchtrennung des Samenstranges die schmerzhaftesten Komponenten der Kastration darstellen. Wie schon in früheren Studien (LEIDIG et al., 2009; HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012; RAUH et al., 2019; SKADE et al., 2021) beschrieben, führte die intratestikuläre Applikation der Lokalanästhetika in der vorliegenden Studie zu einer Reduktion der Abwehrbewegungen während der Kastration im Vergleich zur betäubungslosen Gruppe. Aufgrund niedrigerer Cortisolkonzentrationen und veränderter Vokalisation schlussfolgern KLUIVERS-POODT et al. (2012), dass Lidocain den intraoperativen Schmerz der Kastration lindern kann. Auch BONASTRE et al. (2016) kamen basierend auf den Glukose- und Cortisolkonzentrationen im Serum zu dem Schluss, dass die intratestikuläre Injektion von Lidocain den Kastrationsbedingten akuten Stress reduzieren kann. Im Gegensatz dazu konnten ZÖLS et al. (2006b) keinen Unterschied in den Cortisolkonzentrationen zwischen unter Lokalanästhesie mit Procain und betäubungslos kastrierten

Ferkeln feststellen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen ZANKL et al. (2007) für die Lokalanästhetika Procain und Lidocain. In der vorliegenden Studie reagierten die Ferkel der Lokalanästhesiegruppen beim Hautschnitt tendenziell mit mehr Abwehrbewegungen als bei der Durchtrennung des Samenstranges. Dem Gegenüber reagierten in der Untersuchung von SKADE et al. (2021) unter Lokalanästhesie kastrierte Ferkel mit mehr Abwehrbewegungen auf die Durchtrennung der Samenstränge als auf die Hautschnitte. In der Studie von SKADE et al. (2021) wurden die Lokalanästhetika allerdings appliziert während die Nadel gleichzeitig bis unter die Haut zurückgezogen wurde. Diese Applikationsweise wurde in anderen Studien (HANSSON et al., 2011; KLUIVERS-POODT et al., 2012; BONASTRE et al., 2016) ebenfalls verwendet, jedoch wurden dort die Hautschnitte und die Samenstrangdurchtrennungen nicht einzeln bewertet, was einen Vergleich zwischen der Anästhesie von Hautschnitt und Samenstrang nicht zulässt. Auf diese Applikationsweise wurde in der vorliegenden Studie verzichtet, da mit dieser Technik kein konstant standardisiertes Volumen zu erreichen war, insbesondere da die Injektionen und Kastrationen von drei Tierärztinnen durchgeführt wurden. Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse hinsichtlich der Abwehrbewegungen während der Hautschnitte und der Samenstrangdurchtrennungen könnte sein, dass die intratestikulär und subskrotal verabreichten Lokalanästhetika, wie schon von RANHEIM et al. (2005) beschrieben, nicht ohne Weiteres bis in die Skrotalhaut diffundieren können. RANHEIM et al. (2005) untersuchten mithilfe von radioaktiv markiertem Lidocain die Verteilung von intratestikulär applizierten Lokalanästhetika. Anhand von Autoradiogrammen konnten sie zeigen, dass Lidocain nach intratestikulärer Applikation schnell in die Gefäßstrukturen der Samenstränge gelangt (RANHEIM et al., 2005). Allerdings war Lidocain nicht in der Lage, weder aus den vaskulären Strukturen im Samenstrang noch aus dem subkutan gesetzten Depot, ohne Weiteres durch die *Tunica vaginalis* in den *M. cremaster* zu diffundieren (RANHEIM et al., 2005). Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, dass das subskrotale Depot nicht immer subskrotal zwischen Skrotum und Processus vaginalis gesetzt werden konnte, sondern möglicherweise in das Cavum vaginale. Das Cavum vaginale wird vom Hoden umschließenden

Processus vaginalis gebildet und stellt vor allem distal gemäß GASSE (2004) einen Binnenraum dar. Eine Applikation ins Cavum vaginale würde folglich in einer längeren Diffusionsstrecke durch mehrere Schichten bis zur Skrotalhaut resultieren. Für zukünftige Studien ist von Interesse, ob eine standardisierte sowie praktikable Technik zur Applikation von Lokalanästhetika bei der Saugferkelkastration etabliert werden kann, welche sowohl eine adäquate Anästhesie der Samenstränge als auch der Hautschnitte bewirkt. Darüber hinaus erklärt die Annahme, dass die Lokalanästhetika nicht ohne Weiteres durch die *Tunica vaginalis* in die Haut diffundieren können, jedoch nicht das unterschiedliche Ausmaß der Reduktion der Abwehrbewegungen der Lokalanästhetika während des Hautschnittes. Die Injektion von Procain, Lidocain, Bupivacain oder Mepivacain führte in dieser Studie bei der Durchtrennung des Samenstranges zu einer signifikanten Reduktion der Abwehrbewegungen im Vergleich zur betäubungslos kastrierten Gruppe, während dies beim Hautschnitt nur nach der Injektion von Lidocain und Mepivacain beobachtet werden konnte. Möglicherweise sind die unterschiedlichen pharmakologischen Eigenschaften der hier angewendeten Lokalanästhetika für diese Unterschiede verantwortlich. So liegt die Vermutung nahe, dass das Lokalanästhetikum mit der stärksten analgetischen Potenz, in dieser Studie Bupivacain, den größten schmerzreduzierenden Effekt erzielt. Allerdings konnte dies basierend auf den Abwehrbewegungen nicht bestätigt werden, da weder das hier verwendete Lokalanästhetikum mit der höchsten Potenz von 5 - 10 (Bupivacain) noch das Lokalanästhetikum mit der geringsten Potenz von 1 (Procain) eine signifikante Reduktion der Abwehrbewegungen beim Hautschnitt bewirken konnten. Dass der unterschiedliche Wirkeintritt und die Wirkdauer der Lokalanästhetika (siehe Literaturübersicht Tabelle 1) für die Unterschiede beim Hautschnitt verantwortlich sind, ist eher unwahrscheinlich. Die Wartezeit von 20 Minuten zwischen Injektion und Kastration wurde so gewählt, dass alle verwendeten Lokalanästhetika entsprechend den Literaturangaben bereits sowie noch wirksam gewesen sein sollten. Neben der analgetischen Potenz, dem Wirkeintritt und der Wirkdauer ist der pK_a -Wert eine wichtige pharmakologische Kennzahl. Lokalanästhetika sind schwach basische Amine (RICHTER, 2016).

Demnach liegen sie in wässriger Lösung in einem Säure-Basen-Gleichgewicht zwischen der ungeladenen, deprotonierten und der geladenen, protonierten Form vor (ZINK und GRAF, 2011). Die Lage dieses dynamischen Gleichgewichts ist pH-Wert abhängig und kann über den sogenannten pK_a -Wert definiert werden (ZINK und GRAF, 2011). Der pK_a -Wert der Lokalanästhetika ist deshalb von großer Bedeutung, da nur die ungeladene, lipidlösliche Form mittels Diffusion durch die Zellmembran und an die Bindungsstelle am Natrium-Kanal gelangt (RICHTER, 2016). Die Ergebnisse der Abwehrbewegungen während des Hautschnittes deuten drauf hin, dass Lokalanästhetika mit einem niedrigeren pK_a -Wert (pK_a Lidocain = 7,8 und pK_a Mepivacain = 7,9) eine stärkere Anästhesie des Hautschnittes erreichen als Lokalanästhetika mit einem höheren pK_a -Wert (pK_a Procain = 9,0 und pK_a Bupivacain = 8,1), was möglicherweise auf die bessere Diffusion zurückzuführen ist. Obwohl die Ferkel der Gruppen L und M im Mittel signifikant weniger Abwehrbewegungen während der Hautschnitte aufwiesen als betäubungslos kastrierte Ferkel, reagierten dennoch einzelne Tiere aus diesen Gruppen (L und M) mit starken Abwehrbewegungen auf die Hautschnitte. Möglicherweise ist dies auf die hier verwendete Applikationsmethode zurück zu führen, da besonders die subskrotale Injektion an wachen Ferkeln mit Abwehrbewegungen schwierig durch zu führen ist. Dadurch könnte es sein, dass das subskrotale Depot zur Anästhesie des Hautschnittes nicht richtig gesetzt werden konnte.

Die Ergebnisse der Vokalisation unterstützen die Ergebnisse der Abwehrbewegungen. Im Gegensatz zur Injektion reagierten bei der Kastration signifikant mehr Ferkel der betäubungslos kastrierten Gruppe mit einem Aufschrei auf den Hautschnitt und die Samenstrangdurchtrennung als lediglich gehandelte Ferkel. TAYLOR und WEARY (2000) konnten ebenfalls feststellen, dass Ferkel ohne Anästhesie mehr hochfrequente Laute erzeugen als nur gehandelte. Auch KLUIVERS-POODT et al. (2012) zeigten, dass betäubungslos kastrierte Ferkel länger, lauter und höher schreien. Neben den signifikanten Unterschieden zwischen den Kontrollgruppen (NaCl und Handling), reagierten signifikant weniger Ferkel der Gruppe M im Vergleich zur Gruppe NaCl mit einem

Aufschrei auf die Durchtrennung des Samenstranges. Womöglich konnten aufgrund der geringen Tierzahl und der Streuung signifikante Unterschiede zwischen den übrigen Lokalanästhesie Gruppen und der Positivkontrollgruppe NaCl nicht statistisch bestätigt werden.

Als weitere Methode zur Beurteilung von Schmerzen, wurde ein Hindernislauf nach dem Vorbild von BILSBORROW et al. (2016) verwendet. Unter der Annahme, dass Ferkel infolge von Schmerzen mehr Zeit für die Passage des Hindernislaufs benötigen, wurde deren Navigationszeit erfasst. RAUH et al. (2019) und DAVIS et al. (2017) validierten anhand ihrer Ergebnisse die von BILSBORROW et al. (2016) entwickelte Methode. Sowohl BILSBORROW et al. (2016) als auch DAVIS et al. (2017) konnten demonstrieren, dass betäubungslos kastrierte Ferkel direkt und 15 Minuten nach der Kastration deutlich mehr Zeit für den Hindernislauf benötigen als die nicht kastrierte Tiere. Auch in der Studie von RAUH et al. (2019) durchliefen die betäubungslos kastrierten Ferkel den Hindernislauf direkt nach der Kastration langsamer als lediglich gehandelte. Ergänzend dazu verwendeten RAUH et al. (2019) den Hindernislauf auch direkt nach der Injektion von Lokalanästhetika, wobei Ferkel nach der Injektion von Procain, längere Navigationszeiten aufwiesen als vor der Injektion. Dagegen konnte in der vorliegenden Studie zwischen den Kontrollgruppen (NaCl und H) zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Navigationszeiten gemessen werden. Im Unterschied zu den Studien von BILSBORROW et al. (2016) und DAVIS et al. (2017) waren die Hürden des in dieser Studie verwendeten Hindernislaufes drei Zentimeter niedriger (sieben anstatt zehn Zentimeter), allerdings ein Zentimeter höher als in der Untersuchung von RAUH et al. (2019). Die signifikant kürzere Navigationszeit der Ferkel der Mepivacain-Gruppe nach der Injektion, der Kastration und zwei Stunden nach der Kastration, lässt sich möglicherweise mit den signifikanten Gewichtsunterschieden erklären, da trotz randomisierter Gruppenzuteilung, die Ferkel der Gruppe M im Mittel signifikant schwerer waren. Weshalb der Hindernislauf in dieser Studie nicht als objektive Methode zur Beurteilung von Schmerzen geeignet war, konnte nicht abschließend geklärt werden. Zudem wurde der Hindernislauf dazu

verwendet Nebenwirkungen in Form von Laufauffälligkeiten der Ferkel nach der Injektion sowie nach der Kastration zu erfassen (siehe nächster Abschnitt).

Nebenwirkungen

Neben der Untersuchung der schmerzreduzierenden Wirkung der Lokalanästhetika, wurden auch mögliche Nebenwirkungen erfasst. So wurden das Nachbluten zwei Stunden nach der Kastration sowie die Wundheilung und die Gewichtsentwicklung bis Tag 21 nach der Kastration erhoben. Zusätzlich wurde das Verhalten im, beziehungsweise die Passage des Hindernislaufes auf Beeinträchtigungen der Bewegungsabläufe der Ferkel untersucht. Trippeln, ein unsicheres Gangbild, eine kyphotische Rückenlinie, Sitzen oder Liegen im Hindernislauf und das Verweigern der Hürden wurden in der vorliegenden Studie als Laufauffälligkeit gewertet. Nach der Injektion von Bupivacain traten bei zwei Ferkeln Laufauffälligkeiten auf. Nach der Kastration wurde jeweils bei einem Ferkel aus den Gruppen NaCl und Lidocain, sowie bei zwei Ferkeln der Gruppe Bupivacain Laufauffälligkeiten beobachtet. Außerdem zeigte ein Ferkel aus Gruppe B zwei Stunden nach der Kastration Laufauffälligkeiten. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass der durch die Injektion beziehungsweise Kastration ausgelöste Schmerz selbst zur Beeinträchtigung der Bewegungsabläufe der Ferkel führte. Zu einer ähnlichen Annahme kamen BILSBORROW et al. (2016). RAUH et al. (2019) beobachteten in ihrer Untersuchung nach der Injektion von Procain signifikant mehr Laufauffälligkeiten und schließen daraus, dass dies mitunter auf den stärker empfundenen Injektionsschmerz von Procain zurückzuführen ist. In der vorliegenden Studie konnte eine solche Beobachtung nach der Injektion von Procain nicht gemacht werden, jedoch nach der Injektion von Bupivacain. Da Ferkel mit signifikant mehr Abwehrbewegungen auf die Injektion von Bupivacain reagierten, scheint das Vorhandensein von Schmerzen eine plausible Erklärung für die beobachteten Laufauffälligkeiten nach der Injektion in Gruppe B zu sein. Auch das Verweigern der Passage der Hürden nach der Kastration des betäubungslos kastrierten Ferkels könnte sich damit erklären lassen. Darüber hinaus wäre es denkbar, dass die Laufauffälligkeiten nach der

Kastration auf die Lokalanästhetika selbst zurückzuführen sind. Generell ist die blockierende Wirkung von Lokalanästhetika an Nervenfasern mit einem kleineren Durchmesser stärker als an Nervenfasern mit größerem Durchmesser (RICHTER, 2016). Aufgrund dessen fällt die Funktion der schmerzleitenden Fasern bei niedrigeren Konzentrationen schneller aus, als die der motorischen Fasern und der Fasern, die Druck- und Berührungsreize weiterleiten (RICHTER, 2016). In der vorliegenden Studie wurde nicht nach Gewicht, sondern nach Volumen dosiert, deshalb erhielten alle Ferkel dieselbe Dosierung unabhängig ihres Gewichts. Eine Überdosierung könnte demnach zu höheren Konzentrationen im Bereich der Nervenfasern führen und folglich auch motorische Fasern hemmen, was wiederum zur Beeinträchtigung der Bewegungsabläufe der Ferkel führen würde. Allerdings konnte kein Zusammenhang zwischen den von Laufauffälligkeiten betroffenen Ferkeln und ihren Gewichten festgestellt werden. Dass eine Überdosierung für die Laufauffälligkeiten nach der Injektion verantwortlich ist, ist wie auch bereits von RAUH et al. (2019) beschrieben, sehr unwahrscheinlich. Da diese bei Ferkeln direkt nach der Injektion von Bupivacain aufgetreten sind und der Wirkeintritt von Bupivacain in der Literatur mit mindestens 20 Minuten angegeben wird (RICHTER, 2016). Im Gegensatz dazu stellten WALDMANN et al. (1994), nach der intratestikulären Injektion von insgesamt zwei Milliliter Hostacain (Butanilicainphosphat) eine langanhaltende Parese der Hinterhand bei einem Ferkel fest. In der vorliegenden Studie fielen zwei Stunden nach der Kastration zwei Ferkel aus unterschiedlichen Versuchsgruppen (Gruppe NaCl und L) jedoch aus demselben Wurf auf, da sie weder geh- noch stehfähig waren und noch am selben Tag verendeten. Das Ferkel der Gruppe Lidocain wurde daraufhin pathologisch und histologisch untersucht. Laut Sektionsbericht wurde eine starke Blutung in den Bauchraum, die wahrscheinlich mit einer erhöhten Blutungsneigung einherging, festgestellt. Es kann außerdem nicht ausgeschlossen werden, dass die abdominale Blutung durch die chirurgische Kastration selbst verursacht wurde. Darüber hinaus deutete die Histologie der Lunge auf eine hämorrhagisch-nekrotisierende Pneumonie hin, die am ehesten mit einem Infarkt vereinbar ist. Somit ist neben dem blutungsbedingten Verlust von prokoagulatorischen Substanzen auch ein iatrogener Eintrag

von Lokalanästhetika in die Blutbahn mit ausgeprägter Kardiotoxizität als Todesursache in Betracht zu ziehen. Bei versehentlicher intravasaler Injektion oder der Injektion von zu hoch dosierten lokalanästhetischen Lösungen können Lokalanästhetika auch unerwünschte systemische Wirkungen hervorrufen (LÖSCHER, 2014b; LARSEN, 2018). Hauptsächlich betroffen sind dabei das Herz-Kreislauf-System sowie das zentrale Nervensystem (LÖSCHER, 2014b; LARSEN, 2018). Grundsätzlich gilt, dass mit steigender lokalanästhetischer Wirkung auch die Toxizität steigt (LÖSCHER, 2014b; LARSEN, 2018). In absteigender Reihenfolge ist die Toxizität der in der vorliegenden Studie verwendeten Lokalanästhetika wie folgt: Bupivacain, Lidocain, Mepivacain und Procain (LARSEN, 2018). Da allerdings auch ein Ferkel der Gruppe NaCl verendete und beide Ferkel aus demselben Wurf stammten und das gleiche klinische Erscheinungsbild aufwiesen, ist es wahrscheinlicher, dass eine Koagulopathie bei Beiden die Todesursache war. Diese Erklärung ist in Übereinstimmung mit der Studie von KLUIVERS-POODT et al. (2012), welche bei der gleichen Dosierung von Lidocain keinen Effekt auf die Mortalität nach der Kastration feststellen konnten. Auch HANSSON et al. (2011), HOFMANN et al. (2019) und BONASTRE et al. (2016) konnten bei geringeren Dosierungen keinen Effekt der Lokalanästhetika auf die Mortalität feststellen. Auch wenn die Todesursache wahrscheinlich nicht auf die Lokalanästhetika zurückzuführen ist, sollte mit Hinblick auf die beschriebenen Laufauffälligkeiten sowie den Injektionsschmerz weiter untersucht werden, ob eine Reduktion der Dosis ohne Rückgang der Wirksamkeit möglich ist.

Trotz der Durchtrennung des Samenstranges mit einem Skalpell wurde kein Effekt der Lokalanästhetika im Vergleich zu NaCl auf das Nachbluten beobachtet. Zwei Stunden nach der Kastration waren alle äußerlich erkennbaren Blutungen im Skortalbereich der kastrierten Ferkel gestillt. Obwohl alle verwendeten Lokalanästhetika-Präparate, außer Mepivacain, Epinephrin enthielten, hatte deren Verwendung keinen Einfluss auf die Blutungen zwei Stunden nach der Kastration. Die leichtesten Blutungen traten im Mittel bei betäubungslos kastrierten Tieren auf. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass das durch die Schmerzen der Kastration

freigesetzte körpereigene Adrenalin der betäubungslos kastrierten Ferkel zu einer stärkeren Vasokonstriktion führte als das in den Präparaten enthaltene Epinephrin.

In der vorliegenden Studie wurde kein Effekt der Lokalanästhetika auf die Heilung der Kastrationswunden festgestellt. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von ZÖLS (2006), ZANKL (2007) und HOFMANN et al. (2019), welche ebenso keinen Hinweis auf einen negativen Einfluss der Lokalanästhetika auf die Heilung der Kastrationswunden von Saugferkeln erfassen konnten. Lediglich ein Ferkel der Gruppe B zeigte am Tag nach der Kastration einen erhöhten Wundscore. Anhand der Videoaufnahmen der Kastration konnte beobachtet werden, dass dieses Ferkel während der Kastration Kot abgesetzt hat. Dies führte womöglich zu einer Kontamination der Wunde. Im Gegensatz dazu traten in der Untersuchung von RITTERSHAUS (2009) vermehrt Wundheilungsstörungen bei Ferkeln nach Kastration unter Lokalanästhesie auf. RITTERSHAUS (2009) nimmt an, dass die Störungen der Wundheilung nicht direkt auf die Lokalanästhetika zurückzuführen sind, sondern dass die offenbar durch die Lokalanästhesie bedingte Protrusion des Samenstrangstumpfes aus den Kastrationswunden und die damit einhergehende Kontamination ursächlich ist. Allerdings konnte eine Samenstrangprotrusion in der vorliegenden Studie nicht beobachtet werden.

In Übereinstimmung mit HAY et al. (2003) und KEITA et al. (2010) wurde kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Gewichtsentwicklung zwischen betäubungslos und scheinkastrierten Ferkeln festgestellt. Ein Effekt der Lokalanästhetika auf die Tageszunahmen der Ferkel konnte in der vorliegenden Studie ebenfalls nicht beobachtet werden. Damit übereinstimmende Ergebnisse sind auch von WALDMANN et al. (1994), HANSSON et al. (2011) und KLUIVERS-POODT et al. (2012) in ihren Untersuchungen bezüglich Lidocain beschrieben. KLUIVERS-POODT et al. (2012) untersuchten neben Lidocain auch den Effekt von Meloxicam auf die Gewichtsentwicklung nach der Kastration. Dabei konnte weder ein negativer noch ein positiver Effekt durch die Verwendung von Lidocain und/oder Meloxicam festgestellt werden (KLUIVERS-POODT et al., 2012). Auch TELLES et al. (2016) konnten in ihrer Untersuchung bis zum 60.

Lebenstag keine Unterschiede hinsichtlich der Gewichtszunahmen von betäubungslos kastrierten und unter Lokalanästhesie (Lidocain) kastrierten Ferkeln feststellen. Allerdings untersuchten TELLES et al. (2016) das Wachstum der Ferkel zusätzlich bis zum Ende der Mast (102. Lebenstag). Dabei zeigten Ferkel, welche unter Lokalanästhesie kastriert wurden eine größere Gewichtszunahme am Ende der Wachstumsphase als Ferkel, welche betäubungslos kastriert wurden. Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Studie ist keine Aussage über den langfristigen Effekt der Lokalanästhetika möglich, da die Gewichte der Ferkel nur bis zum 21. Tag nach der Kastration erfasst wurden. Ob, wie in der Studie von TELLES et al. (2016) für Lidocain beschrieben, auch die Lokalanästhetika Procain, Bupivacain und Mepivacain einen langfristigen, positiven Effekt auf die Gewichtsentwicklung haben oder ob es sich dabei um eine einmalige Beobachtung handelt, deren Ursache nicht mit der Verwendung von Lokalanästhetika begründet werden kann, könnte Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Untersuchung war es, den schmerzreduzierenden Effekt der intratestikulär und subskrotal verabreichten Lokalanästhetika Procain, Lidocain, Bupivacain und Mepivacain bei der Ferkelkastration unter standardisierten Bedingungen zu vergleichen sowie deren Auswirkungen auf das Allgemeinbefinden der Ferkel zu erfassen.

Dafür wurden 71 männliche Saugferkel zwischen dem dritten und siebten Lebenstag mit einem Gewicht von mindestens 1,4 kg randomisiert entsprechend der verwendeten Lokalanästhetika in vier Lokalanästhesiegruppen [Procain (P), Lidocain (L), Bupivacain (B) und Mepivacain (M)] und zwei Kontrollgruppen [Handling (H) und betäubungslose Kastration (NaCl)] eingeteilt. Allen Ferkeln, mit Ausnahme der Ferkel in Gruppe H, wurde 20 min vor der Kastration 0,5 ml intratestikulär und 0,5 ml subskrotal des jeweiligen Lokalanästhetikums oder Natriumchlorid entsprechend der Versuchsgruppen in beide Hoden injiziert. Die Injektion sowie die Kastration wurden aufgezeichnet, um das Abwehrverhalten (Abwehrbewegungen und Vokalisation) auszuwerten. Außerdem absolvierten die Tiere einen Hindernislauf, um Beeinträchtigungen ihrer Bewegungsabläufe nach der Injektion beziehungsweise der Kastration zu dokumentieren. Zusätzlich wurden das Nachbluten sowie die Wundheilung und die Gewichtsentwicklung bis Tag 21 nach der Kastration erhoben, um mögliche Nebenwirkungen zu erfassen.

Während der Injektion reagierten Ferkel der Gruppe B mit signifikant mehr Abwehrbewegungen als Ferkel der Gruppen L und H. Zudem wurden bei zwei Tieren der Gruppe B Laufauffälligkeiten direkt nach der Injektion beobachtet. Bezüglich der Vokalisation wurden zum Zeitpunkt der Injektion keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen festgestellt. Zum Zeitpunkt der Kastration wurden die Tiere der Gruppe NaCl im Mittel mit den höchsten Abwehrscores bewertet. Die Gruppen L, M und H reagierten mit signifikant weniger Abwehrbewegungen auf die Hautschnitte als die betäubungslos kastrierte Gruppe. Während der

Durchtrennung der Samenstränge zeigten alle Lokalanästhesie Gruppen signifikant weniger Abwehrbewegungen als die betäubungslos kastrierte Gruppe. Die mittleren Abwehrscores der Lokalanästhesie-Gruppen zum Zeitpunkt des Hautschnitts lagen höher als die zum Zeitpunkt der Samenstrangdurchtrennung. Direkt nach der Kastration wurden Laufauffälligkeiten bei jeweils einem Tier der Gruppen L und NaCl sowie bei zwei Tieren der Gruppe B beobachtet. Zwei Stunden nach der Kastration wurde noch bei einem Ferkel aus Gruppe B ein unsicheres Gangbild festgestellt. Hinsichtlich des Nachblutens, der Wundheilung sowie der Gewichtsentwicklung konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ermittelt werden. Am Tag der Kastration verendeten zwei Ferkel desselben Wurfs, allerdings aus unterschiedlichen Versuchsgruppen (NaCl und L).

Durch die intratestikuläre und subskrotale Injektion von Lidocain und Mepivacain konnte unter standardisierten Bedingungen eine Schmerzreduktion für die Kastration bei wachen Ferkeln erzielt werden. Die Lokalanästhetika Procain und Bupivacain konnten lediglich für die Durchtrennung der Samenstränge eine signifikante Schmerzlinderung erzielen, jedoch nicht für die Hautschnitte, wohingegen nach Injektion von Mepivacain und Lidocain bei beiden Eingriffen eine signifikante Schmerzreduktion erreicht wurde. Dennoch reagierten einzelne Ferkel aus den Gruppen Mepivacain und Lidocain mit starken Abwehrbewegungen auf die Hautschnitte. Darüber hinaus schien die intratestikuläre und subskrotale Injektion von Bupivacain, aufgrund des signifikant höheren Abwehrscores, schmerzhaft zu sein. Zudem traten Beeinträchtigungen der Bewegungsabläufe nach der Injektion von Bupivacain, Lidocain und NaCl auf. Die Lokalanästhetika hatten keinen negativen Einfluss auf den Allgemeinzustand, die postoperativen Blutungen, die Wundheilung oder die Gewichtsentwicklung der Ferkel. Im Hinblick auf die beschriebenen Laufauffälligkeiten, den Injektionsschmerz, die Praktikabilität der Methode und die teils ungenügende Anästhesie der Skrotalhaut sollte weiter untersucht werden, ob eine Verbesserung der Applikationstechnik sowie eine Reduktion der Dosis ohne Verluste hinsichtlich der Wirksamkeit zu erreichen sind.

VIII. SUMMARY

The aim of the study was to compare the effect of the local anesthetics procaine, lidocaine, bupivacaine and mepivacaine administered intratesticularly and subscrotally on pain relief during the surgical castration of piglets under standardized conditions and to record their effects on the general condition of the piglets.

Therefore, 71 male piglets between the third and seventh day of life weighing at least 1.4 kg were randomly distributed into four local anesthetic groups according to the local anesthetics used [procaine (P), lidocaine (L), bupivacaine (B) and mepivacaine (M)] and two control groups [handling (H) and castration without anesthesia or analgesia (NaCl)]. 20 minutes prior to castration all piglets, except those of group H, received an injection of the corresponding local anesthetic or sodium chloride of 0.5 ml intratesticularly and 0.5 ml subscrotally into both testicles according to the study groups. The injection and castration were recorded to evaluate the defensive behavior (defensive movements and vocalization). Furthermore, the piglets passed through a handling chute to document impairments in their locomotor activity after injection and castration respectively. Additionally, postoperative bleeding, wound healing and development of weight were recorded up to day 21 after castration to assess possible side effects.

During injection piglets of group B showed significantly more defensive movements compared to piglets of groups L and H. Additionally, impairments of the locomotor activity were observed in two animals of group B immediately after injection. During injection, no significant differences were found among the individual groups regarding vocalization. The highest mean scores of defensive movements were found in animals of group NaCl during castration. Groups L, M and H showed significantly fewer defensive movements during skin incision compared to the group castrated without anesthesia. During the severing of the spermatic cord, all local anesthetic groups showed significantly fewer defensive movements compared to group NaCl. During the skin incision

the mean scores of defensive movements were higher than during the severing of the spermatic cords. Immediately after castration, one piglet of group L, one piglet of group NaCl and two piglets of group B showed impairments of the locomotor activity. Two hours after castration, an unsteady gait was observed in one piglet of group B. Regarding the postoperative bleeding, wound healing and weight gain, no significant differences could be detected among the groups. On the day of castration, two piglets from the same litter, but from different experimental groups (NaCl and L) died.

The intratesticular and subscrotal injection of lidocaine and mepivacaine were able to achieve significant pain relief during castration under standardized conditions in conscious piglets. The local anesthetics procaine and bupivacaine could only relieve pain significantly during severing the spermatic cords but not during the skin incisions, whereas significant pain relief was achieved for both procedures after the injection of mepivacaine and lidocaine. However, some piglets of the groups M and L reacted with severe defensive movements during the skin incisions. Moreover, due to the significantly higher occurrence of defensive movements, the intratesticular and subscrotal injection of bupivacaine seemed to cause pain itself. Besides, after the application of bupivacaine, lidocaine and sodium chloride impairments of locomotor activity occurred. The local anesthetics showed no negative effect on the general condition, postoperative bleeding, wound healing or weight gain of the piglets. With regard to the impairments of locomotor activity, pain of injection, practicability of the method and the partly inadequate anesthesia of the scrotal skin, it should be further investigated whether an improvement of the application technique as well as a reduction of the dose are possible without losses of efficacy.

IX. TABELLENVERZEICHNIS

Tabellen aus den Kapiteln II und III

<i>Tabelle 1: Wichtige pharmakologische Eigenschaften und Arzneimittelzulassung der verwendeten Lokalanästhetika.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 2: Einteilung der Versuchsgruppen.</i>	<i>29</i>
<i>Tabelle 3: Score angelehnt an LEIDIG et al. (2009) zur Bewertung der Abwehrbewegungen während der Injektion, des Hautschnittes sowie der Durchtrennung des Samenstranges.</i>	<i>33</i>

Tabellen aus dem Kapitel IV

<i>Table 1: Classification of study groups.....</i>	<i>42</i>
<i>Table 2: Mean values and standard deviation of age and body weight on day of castration.</i>	<i>47</i>
<i>Table 3: Number of piglets with increased vocalization/number of piglets per group during injection, skin incision and severing spermatic cord. .</i>	<i>50</i>
<i>Table 4: Mean values and standard deviation of navigation time in seconds of the piglets through the handling chute according to Bilsborrow et al. [28] in different groups before injection, after injection, after castration, two hours after castration and one day after castration.</i>	<i>51</i>
<i>Table 5: Impairments of locomotor activity at different times of individual piglets.</i>	<i>52</i>

X. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildungen aus den Kapitel III und V

<i>Abbildung 1: Zeitlicher Ablauf der Studie vom Tag vor der Kastration bis zum 21. Tag nach der Kastration.....</i>	<i>30</i>
<i>Abbildung 2: Zusammenhang der Abwehrbewegungen und der Vokalisation zum Zeitpunkt der Injektion, dem Hautschnitt und der Samenstrangdurchtrennung.....</i>	<i>69</i>

Abbildungen aus dem Kapitel IV

<i>Figure 1: Illustration of the handling chute according to Bilsborrow et al. [28]; dimensions = internal dimensions in mm.</i>	<i>43</i>
<i>Figure 2: Mean values, confidence intervals and p-values of the score used to evaluate the defensive movements in different groups during injection, skin incision and severing of the spermatic cord; outliers were calculated using Tukey's method and were tagged on the picture with a value instead of the data point to avoid clutter.....</i>	<i>49</i>

XI. LITERATURVERZEICHNIS

Ammer H, Potschka H. Pharmakologie des Zentralnervensystems (ZNS). In: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 4 edn. Löscher W, Richter A, eds. Enke Verlag, Stuttgart 2016: 125-179.

Andresen Ø. Boar taint related compounds: Androstenone/skatole/other substances. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2006; 48: S5.

Arndt KA, Burton C, Noe JM. Minimizing the pain of local anesthesia. *Plastic and Reconstructive Surgery* 1983; 72: 676-679.

Arzneimittelgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394), das zuletzt durch Artikel 5 des Gesetzes vom 9. Dezember 2020 (BGBl. I S. 2870) geändert worden ist.

Baldinger L, Traulsen I, Weißmann F, Krieter J, Bussemas R. Vergleich der Injektions- und Inhalationsnarkose zur Kastration von ökologisch aufgezogenen Ferkeln hinsichtlich Verhalten und Wachstum. *Landbauforschung* 2017a; 67: 71-78.

Baldinger L, Traulsen I, Weißmann F, Bussemas R. Verhalten und Wachstum von Ferkeln nach der Kastration unter Injektions- oder Inhalationsnarkose. 14. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau 2017b: 570-573.

Barton-Gade PA. Meat and fat quality in boars, castrates and gilts. *Livestock Production Science* 1987; 16: 187-196.

Bauer A, Judas M. Schlachtkörperqualität von Mastebären in Vergleich zu Sauen und Börgen. *Züchtungskunde* 2014; 5: 86.

Bilsborrow K, Seddon YM, Brown J, Waldner C, Stookey JM. An investigation of a novel behavioural test to assess pain in piglets following castration. *Canadian Journal of Animal Science* 2016; 96: 376-385.

Blanch M, Panella-Riera N, Chevillon P, i Furnols MF, Gil M, Gil JM, Kallas Z, Oliver MA. Impact of consumer's sensitivity to androstenone on acceptability of meat from entire male pigs in three European countries: France, Spain and United Kingdom. *Meat Science* 2012; 90: 572-578.

BLE. Bekanntmachung zur Ferkelkastration. https://www.ble.de/SharedDocs/Meldungen/DE/2018/180103_Schmerzau sschaltung.html. Accessed: 07.01.2021.

BMEL. Mehr Tierwohl in der Schweinehaltung- Alternativen zur betäubungslosen Ferkelkastration. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, Berlin Juni 2020a.

BMEL. Ausstieg aus der betäubungslosen Ferkelkastration. <https://www.bmel.de/DE/themen/tiere/tierschutz/ferkelkastration201811.html>. Accessed: 03.12.2020b.

Bonastre C, Mitjana O, Tejedor MT, Calavia M, Yuste AG, Ubeda JL, Falceto MV. Acute physiological responses to castration-related pain in piglets: the effect of two local anesthetics with or without meloxicam. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience* 2016; 10: 1474-1481.

Bondville J. Pain-free harvesting of skin grafts with EMLA. *Plastic Surgical Nursing: Official Journal of the American Society of Plastic and Reconstructive Surgical Nurses* 1994; 14: 231-234.

Bonneau M, Weiler U. Pros and cons of alternatives to piglet castration: Welfare, boar taint, and other meat quality traits. *Animals : An Open Access Journal from MDPI* 2019; 9(11): 884.

Breer H, Pfannkuche H, Sann H, Deeg CA. Sinnesphysiologie. In: Physiologie der Haustiere, 5 edn. von Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G, eds. Enke Verlag, Stuttgart 2015: 69-111.

Breves G. Herz. In: Physiologie der Haustiere, 5 edn. von Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G, eds. Enke Verlag, Stuttgart 2015: 167-191.

Buer H, Palzer A, Frohn Mayer S. Kastration von Schweinen. In: NutztierSkills Arbeitstechniken in der Großtierpraxis: Rind, Schwein, Schaf, Ziege, 2 edn. Buer H, Palzer A, Frohn Mayer S, eds. Schattauer, Stuttgart 2016: 192-193.

Bünger B, Schrader L, Schrade H, Zacharias B. Agonistic behaviour, skin lesions and activity pattern of entire male, female and castrated male finishing pigs. Applied Animal Behaviour Science 2015; 171: 64-68.

Busselton Medical Practice. Why do local anesthetics sting? <http://www.busseltondoctors.com.au/information/blog/item/27-why-do-local-anaesthetics-sting>. Accessed: 19.02.2021.

Chen G. Physiological and biochemical factors responsible for boar taint. Diss. med. vet. 2007. Swedish University of Agricultural Sciences.

Chvapil M, Hameroff SR, O'Dea K, Peacock EE. Local anesthetics and wound healing. The Journal of Surgical Research 1979; 27: 367-371.

Colaric KB, Overton DT, Moore K. Pain reduction in lidocaine administration through buffering and warming. The American Journal of Emergency Medicine 1998; 16: 353-356.

Corral S, Salvador A, Flores M. Effect of the use of entire male fat in the production of reduced salt fermented sausages. Meat Science 2016; 116: 140-150.

Craig KD. The social communication model of pain. *Canadian Psychology* 2009; 50: 1198-1199.

Currah JM, Hendrick SH, Stookey JM. The behavioral assessment and alleviation of pain associated with castration in beef calves treated with flunixin meglumine and caudal lidocaine epidural anesthesia with epinephrine. *The Canadian Veterinary Journal* 2009; 50: 375-382.

Davis K, Seddon Y, Creutzinger K, Bouvier M, Brown J. An investigation into the use of sucrose to reduce castration pain in piglets. *Canadian Journal of Animal Science* 2017; 97: 439-447.

De Briyne N, Berg C, Blaha T, Temple D. Pig castration: will the EU manage to ban pig castration by 2018? *Porcine Health Management* 2016; 2: 29.

Desmoulin B, Bonneau M, Frouin A, Bidard J. Consumer testing of pork and processed meat from boars: the influence of fat androstenone level. *Livestock Production Science* 1982; 9: 707-715.

Di Giminiani P, Brierley VL, Scollo A, Gottardo F, Malcolm EM, Edwards SA, Leach MC. The assessment of facial expressions in piglets undergoing tail docking and castration: toward the development of the piglet grimace scale. *Frontiers in Veterinary Science* 2016; 3: 100.

Dunshea F, Colantoni C, Howard K, McCauley I, Jackson P, Long K, Lopaticki S, Nugent E, Simons J, Walker J. Vaccination of boars with a GnRH vaccine (Improvac) eliminates boar taint and increases growth performance. *Journal of Animal Science* 2001; 79: 2524-2535.

Einarsson S, Andersson K, Wallgren M, Lundström K, Rodriguez-Martinez H. Short-and long-term effects of immunization against gonadotropin-releasing hormone, using ImprovacTM, on sexual maturity, reproductive organs and sperm morphology in male pigs. *Theriogenology* 2009; 71: 302-310.

Emmerich IU, Wittek T, Hennig-Pauka I. Dosierungsvorschläge für Arzneimittel bei Rindern und Schweinen. 1 edn. Schattauer Verlag, Stuttgart 2014.

Enz A, Schüpbach-Regula G, Bettschart R, Fuschini E, Bürgi E, Sidler X. Erfahrungen zur Schmerzausschaltung bei der Ferkelkastration in der Schweiz. Teil 2: Injektionsanästhesie. Schweizer Archiv für Tierheilkunde 2013a; 155: 661-668.

Enz A, Schüpbach-Regula G, Bettschart R, Fuschini E, Bürgi E, Sidler X. Erfahrungen zur Schmerzausschaltung bei der Ferkelkastration in der Schweiz Teil 1: Inhalationsanästhesie. Schweizer Archiv für Tierheilkunde 2013b; 155: 651-659.

Ferkelbetäubungssachkundeverordnung vom 8. Januar 2020 (BGBl. I S. 96).

Fredriksen B, Font IFM, Lundstrom K, Migdal W, Prunier A, Tuytens FA, Bonneau M. Practice on castration of piglets in Europe. Animal: an International Journal of Animal Bioscience 2009; 3: 1480-1487.

Freitag B. Pharmakologie und Toxikologie der Lokalanästhetika. 36. Repetitorium Anästhesiologie, Schmerztherapie und Notfallmedizin. Berlin 2011.

Garcia ER. Local anesthetics. In: Veterinary anesthesia and analgesia: the fifth edition of Lumb and Jones, 5 edn. Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA, eds. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey 2015: 332-354.

Gasse H. Männliche Geschlechtsorgane. In: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band II, 9 edn. Nickel R, Schummer A, Seiferle E, eds. Parey Verlag, Stuttgart 2004: 341-382.

Gill HS, Prausnitz MR. Does needle size matter? *Journal of Diabetes Science and Technology* 2007; 1: 725-729.

Gottardo F, Scollo A, Contiero B, Ravagnani A, Tavella G, Bernardini D, De Benedictis G, Edwards S. Pain alleviation during castration of piglets: a comparative study of different farm options. *Journal of Animal Science* 2016; 94: 5077-5088.

Gunn M, Allen P, Bonneau M, Byrne DV, Cinotti S, Fredriksen B, Hansen LL, Karlsson AH, Linder AMG, Lundström K. Opinion of the scientific panel on animal health and welfare on a request from the commission related to welfare aspects of the castration of piglets. *European Food Safety Authority* 2004: 1-18.

Hanna MN, Elhassan A, Veloso PM, Lesley M, Lissauer J, Richman JM, Wu CL. Efficacy of bicarbonate in decreasing pain on intradermal injection of local anesthetics: a meta-analysis. *Regional Anesthesia & Pain Medicine* 2009; 34: 122-125.

Hansson M, Lundeheim N, Nyman G, Johansson G. Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2011; 53: 34.

Hay M, Vulin A, Génin S, Sales P, Prunier A. Assessment of pain induced by castration in piglets: behavioral and physiological responses over the subsequent 5 days. *Applied Animal Behaviour Science* 2003; 82: 201-218.

Heinritzi K, Ritzmann M, Otten W. Alternativen zur Kastration von Saugferkeln, Bestimmung von Katecholaminen sowie Wundheilung nach Kastration von Saugferkeln zu unterschiedlichen Zeitpunkten. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 2006; 113: 94-97.

Hofmann K, Rauh A, Harlizius J, Weiss C, Scholz T, Schulze-Horsel T, Escribano D, Ritzmann M, Zöls S. Schmerz- und Stressbestimmung bei der Injektion und Kastration von Saugferkeln unter Lokalanästhesie mit Procain und Lidocain Teil 1: Kortisol, Chromogranin A, Wundheilung, Gewichtsentwicklung, Saugferkelverluste. Tierärztliche Praxis Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere 2019; 47: 87-96.

i Furnols MF, Gispert M, Diestre A, Oliver M. Acceptability of boar meat by consumers depending on their age, gender, culinary habits, and sensitivity and appreciation of androstenone odour. Meat Science 2003; 64: 433-440.

Kehlet H. Surgical stress: the role of pain and analgesia. British Journal of Anaesthesia 1989; 63: 189-195.

Keita A, Pagot E, Prunier A, Guidarini C. Pre-emptive meloxicam for postoperative analgesia in piglets undergoing surgical castration. Veterinary Anaesthesia and Analgesia 2010; 37: 367-374.

Kluiwers-Poodt M, Hopster H, Spoolder HAM. Castration under anaesthesia and/or analgesia in commercial pig production. Animal Sciences Group, Wageningen UR. 2007.

Kluiwers-Poodt M, Houx BB, Robben SRM, Koop G, Lambooij E, Hellebrekers LJ. Effects of a local anaesthetic and NSAID in castration of piglets, on the acute pain responses, growth and mortality. Animal: an International Journal of Animal Bioscience 2012; 6: 1469-1475.

Kmiec M. Die Kastration von Saugferkeln ohne und mit Allgemeinanästhesie (Azaperon-Ketamin): Praktikabilität, Wohlbefinden und Wirtschaftlichkeit. Diss. med. vet. 2005. Freie Universität Berlin.

Koo TK, Li MY. A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. Journal of Chiropractic Medicine 2016; 15: 155-163.

Lackner A, Goller-Englberger K, Ritzmann M, Heinritzi K. Zur Schmerzhaftigkeit und Wundheilung bei der Kastration und dem Schwanzkupieren der Saugferkel. Gumpensteiner Nutztierschutztagung 2002: 39-41.

Lahrmann K, Kmiec M, Stecher S. Die Saugferkelkastration mit der Ketamin/Azaperon-Allgemeinanästhesie: tierschutzkonform, praktikabel, aber wirtschaftlich? Praktischer Tierarzt 2006; 8: 802-809.

Larsen R. Lokalanästhetika. In: Anästhesie, 11 edn. Larsen R, ed. Elsevier Verlag 2018: 121-146.

Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. Pharmacological Reviews 2001; 53: 597-652.

Leidig MS, Hertrampf B, Failing K, Schumann A, Reiner G. Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour. Applied Animal Behaviour Science 2009; 116: 174-178.

Liebich H-G, König HE. Männliche Geschlechtsorgane (Organa genitalia masculina). In: Anatomie der Haustiere, 7 edn. Liebich H-G, König HE, eds. Thieme Verlag, Stuttgart 2018: 431-446.

Litzke L-F, Kramer M, Dietz O. Wunden, Wundbehandlung, Wundheilung. In: Lehrbuch der Allgemeinen Chirurgie für Tiermediziner, 6 edn. Dietz O, Litzke L-F, eds. Enke Verlag, Stuttgart 2003: 1-36.

Löscher W. Pharmaka mit Wirkung auf das Zentralnervensystem. In: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 9 edn. Löscher W, Richter A, Potschka H, eds. Enke Verlag, Stuttgart 2014a: 93-165.

Löscher W. Lokalanästhetika. In: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 9 edn. Löscher W, Richter A, Potschka H, eds. Enke Verlag, Stuttgart 2014b: 166-172.

Lykkegaard K, Lauritzen B, Tessem L, Weikop P, Svendsen O. Local anaesthetics attenuates spinal nociception and HPA-axis activation during experimental laparotomy in pigs. *Research in Veterinary Science* 2005; 79: 245-251.

Mader TJ, Playe SJ, Garb JL. Reducing the pain of local anesthetic infiltration: warming and buffering have a synergistic effect. *Annals of Emergency Medicine* 1994; 23: 550-554.

Manteuffel G, Schön PC. STREMODO, ein innovatives Verfahren zur kontinuierlichen Erfassung der Stressbelastung von Schweinen bei Haltung und Transport. *Archives Animal Breeding* 2004; 47: 173-181.

Marchant-Forde J, Lay Jr D, McMunn K, Cheng HW, Pajor E, Marchant-Forde R. Postnatal piglet husbandry practices and well-being: the effects of alternative techniques delivered separately. *Journal of Animal Science* 2009; 87: 1479-1492.

Marx G, Horn T, Thielebein J, Knubel B, von Borell E. Analysis of pain-related vocalization in young pigs. *Journal of Sound and Vibration* 2003; 266: 687-698.

McKay W, Morris R, Mushlin P. Sodium bicarbonate attenuates pain on skin infiltration with lidocaine, with or without epinephrine. *Anesthesia & Analgesia* 1987; 66: 572-574.

Meinecke B, Huber K. Endokrinologie und Reproduktion. In: *Physiologie der Haustiere*, 5 edn. von Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G, eds. Enke Verlag, Stuttgart 2015: 531-632.

Morris T, Appleby R. Retardation of wound healing by procaine. The British Journal of Surgery 1980; 67: 391-392.

National Cancer Institut (NIH). Pain Assessment. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/side-effects/pain/pain-hp-pdq#section/all>. Accessed: 11.01.2021.

Nickel R, Schummer A, Seiferle E. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band IV Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen. 4 edn. Parey Verlag, Stuttgart 2004.

Palmon SC, Lloyd AT, Kirsch JR. The effect of needle gauge and lidocaine pH on pain during intradermal injection. Anesthesia & Analgesia 1998; 86: 379-381.

Patil I. ggstatsplot: 'ggplot2' Based Plots with Statistical Details. <https://CRAN.R-project.org/package=ggstatsplot>. Accessed: 14 September 2020.

Patterson R. 5 α -androst-16-ene-3-one: Compound responsible for taint in boar fat. Journal of the Science of Food and Agriculture 1968; 19: 31-38.

Pauly C, Spring P, O'doherty J, Ampuero Kragten S, Bee G. Growth performance, carcass characteristics and meat quality of group-penned surgically castrated, immunocastrated (Improvac®) and entire male pigs and individually penned entire male pigs. Animal: an International Journal of Animal Bioscience 2009; 3: 1057-1066.

Pauly C, Luginbühl W, Ampuero S, Bee G. Expected effects on carcass and pork quality when surgical castration is omitted - Results of a meta-analysis study. Meat Science 2012; 92: 858-862.

Perez-Pedraza E, Mota-Rojas D, Ramirez-Necoechea R, Guerrero-Legarreta I, Martinez-Burnes J, Lezama-Garcia K, Mora-Medina P, Rosas M, Martinez V, Gonzalez-Lozano M. Effect of the number of incisions and use of local anesthesia on the physiological indicators of surgically-castrated piglets. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 2018; 6: 159-164.

Pfannkuche H. Nozizeption und Schmerz: neurophysiologische Grundlagen. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere* 2008; 36: 5-11.

Plonait H. Die Kastration männlicher Schweine. In: *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*, 4 edn. Waldmann K, Wendt M, eds. Parey Verlag, Stuttgart 2004: 542-547.

Prunier A, Mounier A, Hay M. Effects of castration, tooth resection, or tail docking on plasma metabolites and stress hormones in young pigs. *Journal of Animal Science* 2005; 83: 216-222.

Puppe B, Schön PC, Tuchscherer A, Manteuffel G. Castration-induced vocalisation in domestic piglets, *Sus scrofa*: complex and specific alterations of the vocal quality. *Applied Animal Behaviour Science* 2005; 95: 67-78.

Raja SN, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, Gibson S, Keefe FJ, Mogil JS, Ringkamp M, Sluka KA, Song X-J, Stevens B, Sullivan MD, Tutelman PR, Ushida T, Vader K. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *PAIN* 2020; 161: 1976-1982.

Ranheim B, Haga HA, Ingebrigtsen K. Distribution of radioactive lidocaine injected into the testes in piglets. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2005; 28: 481-483.

Rauh A. Untersuchung der Schmerz- und Stressreaktionen bei der Injektion und Kastration von Saugferkeln unter Lokalanästhesie. Diss. med. vet. 2019. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Rauh A, Hofmann K, Harlizius J, Weiss C, Numberger J, Scholz T, Schulze-Horsel T, Otten W, Ritzmann M, Zöls S. Schmerz- und Stressbestimmung bei der Injektion und Kastration von Saugferkeln unter Lokalanästhesie mit Procain und Lidocain Teil 2: Abwehrverhalten, Katecholamine, koordinierte Bewegungsabläufe. Tierärztliche Praxis Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere 2019; 47: 160-170.

Reiter S, Zöls S, Ritzmann M, Stefanski V, Weiler U. Penile injuries in immunocastrated and entire male pigs of one fattening farm. Animals: an Open Access Journal from MDPI 2017; 7 (9): 71.

Richter A. Lokalanästhetika. In: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 4 edn. Löscher W, Richter A, eds. Enke Verlag, Stuttgart 2016: 180-187.

Rittershaus D. Topische Anästhesieverfahren zur Schmerzreduktion bei der Saugferkelkastration. Diss. med. vet. 2009. Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover.

Richtlinie 2008/120/EG des Rates vom 18. Dezember 2008 über Mindestanforderungen für den Schutz von Schweinen.

Richtlinie 2010/63/EU des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere.

Rydhmer L, Zamaratskaia G, Andersson H, Algers B, Guillemet R, Lundström K. Aggressive and sexual behaviour of growing and finishing pigs reared in groups, without castration. Acta Agriculturae Scandinavica. Section A, Animal Science 2006; 56: 109-119.

Rydhmer L, Lundström K, Andersson K. Immunocastration reduces aggressive and sexual behaviour in male pigs. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience* 2010; 4: 965-972.

Saller AM, Werner J, Reiser J, Senf S, Deffner P, Abendschön N, Weiß C, Fischer J, Schörwerth A, Miller R, Zablotzki Y, Bergmann S, Erhard MH, Ritzmann M, Zöls S, Baumgartner C. Local anesthesia in piglets undergoing castration - A comparative study to investigate the analgesic effects of four local anesthetics on the basis of acute physiological responses and limb movements. *PLOS ONE* 2020; 15: 7.

Schaible H-G. Nozizeption und Schmerz. In: *Physiologie des Menschen: Mit Pathophysiologie*, 31 edn. Schmidt RF, Lang F, eds. Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2011: 298-312.

Schnurrbusch U. Kastration. In: *Schweinekrankheiten*. Heinritzi K, Gindele HR, Reiner G, Schnurrbusch U, eds. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 2006: 342-344.

Schön P, Puppe B, Tuchscherer A, Manteuffel G. Veränderungen der Vokalisation während der Kastration beim Hausschwein weisen auf Schmerzempfindung hin. *Züchtungskunde* 2006; 78: 44-54.

Schulz C. Auswirkung einer Isofluran-Inhalationsnarkose auf den Kastrationsstress und die postoperativen Kastrationsschmerzen von Ferkeln. *Diss. med. vet.* 2007. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Schwennen C, Dziuba D, Schön P, Kietzmann M, Waldmann K, von Altrock A. Lokale Anästhesieverfahren zur Schmerzreduktion bei der Saugferkelkastration. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 2020; 133.

Serour F, Mandelberg A, Mori J. Slow injection of local anaesthetic will decrease pain during dorsal penile nerve block. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 1998; 42: 926-928.

Sheil ML, Chambers M, Sharpe B. Topical wound anaesthesia: efficacy to mitigate piglet castration pain. *Australian Veterinary Journal* 2020; 98: 256-263.

Skade L, Kristensen CS, Nielsen MBF, Diness LH. Effect of two methods and two anaesthetics for local anaesthesia of piglets during castration. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2021; 63: 1-9.

Škrlep M, Batorek N, Bonneau M, Prevolnik M, Kubale V, Čandek-Potokar M. Effect of immunocastration in group-housed commercial fattening pigs on reproductive organs, malodorous compounds, carcass and meat quality. *Czech Journal of Animal Science* 2012; 57: 290-299.

Statistisches Bundesamt. Gehaltene Tiere: Deutschland, Jahre, Tierarten. <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online>. Accessed: 09.01.2021.

Strazar AR, Leynes PG, Lalonde DH. Minimizing the pain of local anesthesia injection. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2013; 132: 675-684.

Sutherland M, Davis B, Brooks T, McGlone J. Physiology and behavior of pigs before and after castration: effects of two topical anesthetics. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience* 2010; 4: 2071-2079.

Sutherland M. Welfare implications of invasive piglet husbandry procedures, methods of alleviation and alternatives: a review. *New Zealand Veterinary Journal* 2015; 63: 52-57.

Tacke S, Erhardt W, Henke J, Baumgartner C, Kroker R. Lokalanästhetika. In: Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier, 2 edn. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, eds. Schattauer, Stuttgart 2011: 111-118.

Taylor AA, Weary DM. Vocal responses of piglets to castration: identifying procedural sources of pain. *Applied Animal Behaviour Science* 2000; 70: 17-26.

Taylor AA, Weary DM, Lessard M, Braithwaite L. Behavioural responses of piglets to castration: the effect of piglet age. *Applied Animal Behaviour Science* 2001; 73: 35-43.

Telles FG, Luna SPL, Teixeira G, Berto DA. Long-term weight gain and economic impact in pigs castrated under local anaesthesia. *Veterinary and Animal Science* 2016; 1-2: 36-39.

Thun R, Gajewski Z, Janett F. Castration in male pigs: techniques and animal welfare issues. *Journal of Physiology and Pharmacology: an Official Journal of the Polish Physiological Society* 2006; 57: 189-194.

Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), das zuletzt durch Artikel 280 der Verordnung vom 19. Juni 2020 (BGBl. I S. 1328) geändert worden ist.

VETIDATA. Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht. <https://www.vetidata.de>. Accessed: 01.03.2021.

Vold E. Fleischproduktionseigenschaften bei Ebern und Kastraten IV: Organoleptische und gaschromatographische Untersuchungen wasserdampfvlüchtiger Stoffe des Rückenspecks von Ebern. *Norges Landbruskshogsk Meld* 1970; 49: 25.

von Engelhardt W. Kreislauf. In: Physiologie der Haustiere, 5 edn. von Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G, eds. Enke Verlag, Stuttgart 2015: 192-215.

Wagner KJ. Regionalanästhesie. In: Anästhesie Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie, 4 edn. Schulte am Esch J, Bause H, Kochs E, Scholz J, Standl T, Werner C, eds. Thieme Verlag, Stuttgart 2011: 186-220.

Waldmann K, Otto K, Bollwahn W. Ferkelkastration-Schmerzempfindung und Schmerzausschaltung. Deutsche tierärztliche Wochenschrift 1994; 101: 105-109.

Waldmann K, Potschka H, Lahrmann K, Kästner S. Saugferkelkastration unter Lokalanaesthesie? Eine Situationsanalyse aus wissenschaftlicher Sicht. Deutsches Tierärzteblatt 2018; 66: 1218-1226.

Walker B, Jäggin N, Doherr M, Schatzmann U. Inhalation anaesthesia for castration of newborn piglets: experiences with isoflurane and isoflurane/N2O. Journal of Veterinary Medicine. Series A 2004; 51: 150-154.

Walstra P, Claudi-Magnussen C, Chevillon P, von Seth G, Diestre A, Matthews K, Homer D, Bonneau M. An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: levels of androstenone and skatole by country and season. Livestock Production Science 1999; 62: 15-28.

Weary DM, Braithwaite LA, Fraser D. Vocal response to pain in piglets. Applied Animal Behaviour Science 1998; 56: 161-172.

Weiler U, i Furnols MF, Fischer K, Kemmer H, Oliver M, Gispert M, Dobrowolski A, Claus R. Influence of differences in sensitivity of Spanish and German consumers to perceive androstenone on the acceptance of boar meat differing in skatole and androstenone concentrations. *Meat Science* 2000; 54: 297-304.

Weiler U, Isernhagen M, Stefanski V, Ritzmann M, Kress K, Hein C, Zöls S. Penile injuries in wild and domestic pigs. *Animals : an open access journal from MDPI* 2016; 6.

White RG, DeShazer JA, Tressler CJ, Borchert GM, Davey S, Waninge A, Parkhurst AM, Milanuk MJ, Clemens ET. Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic. *Journal of Animal Science* 1995; 73: 381-386.

Zankl A. Untersuchungen zur Wirksamkeit und Gewebeverträglichkeit von Lokalanästhetika bei der Kastration männlicher Saugferkel. Diss. med. vet. 2007. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Zankl A, Ritzmann M, Zöls S, Heinritzi K. Untersuchungen zur Wirksamkeit von Lokalanästhetika bei der Kastration von männlichen Saugferkeln. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 2007; 114: 418-422.

Zilinsky I, Bar-Meir E, Zaslansky R, Mendes D, Winkler E, Orenstein A. Ten commandments for minimal pain during administration of local anesthetics. *Journal of Drugs in Dermatology* 2005; 4: 212-216.

Zink W, Graf BM. Lokalanästhetika. In: *Pharmakotherapie in der Anästhesie und Intensivmedizin*, 1 edn. Tonner PH, Hein L, eds. Springer Verlag, Berlin 2011: 159-183.

Zöls S, Ritzmann M, Heinritzi K. Einfluss von Schmerzmitteln bei der Kastration männlicher Ferkel. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 2006a; 119: 193-196.

Zöls S. Möglichkeiten der Schmerzreduzierung bei der Kastration männlicher Saugferkel. Diss. med. vet. 2006. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Zöls S, Ritzmann M, Heinritzi K. Einsatz einer Lokalanästhesie bei der Kastration von Ferkeln. Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere/Nutztiere 2006b; 34: 103-106.

XII. ANHANG

Score Sheet Abwehrverhalten

Versuchsteil:
Versuchsgruppe:
Datum der Kastration:

Stall/Bucht:
Geburtsdatum:
Gewicht am Tag der Kastration:

Mutter ID:
Ferkel ID:
Interne Batchnr.:

	Intensität der Bewegung <input type="checkbox"/> 0= keine <input type="checkbox"/> 1= Bewegung mit 1 Bein <input type="checkbox"/> 2= Bewegung mit 2 Beinen <input type="checkbox"/> 3= Bewegung mit 3 Beinen <input type="checkbox"/> 4= Bewegung mit 4 Beinen <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4	Dauer der Bewegung <input type="checkbox"/> 0= keine <input type="checkbox"/> 1= einzelne Bewegung <input type="checkbox"/> 2= wiederholte Bewegung (2-4x) <input type="checkbox"/> 3= anhaltende Bewegung (>4x) <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	Vokalisation (Aufschrei) <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> Ja	Kot <input type="checkbox"/>	Urin <input type="checkbox"/>	Technik <input type="checkbox"/> 2. Injektion (wg Abwehrbewegung) <input type="checkbox"/> 2. Injektion (wg Abwehrbewegung)	Anmerkung
Injektion rechts	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> Ja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 2. Injektion (wg Abwehrbewegung)	
Injektion links	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> Ja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 2. Injektion (wg Abwehrbewegung)	
Hautschnitt rechts	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> Ja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 2. Schnitt nötig <input type="checkbox"/> 2. Schnitt für Eröffnung Proc. vaginalis	
Sas rechts	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> Ja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 2. Schnitt für Durchtrennung	
Hautschnitt links	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> Ja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 2. Schnitt nötig <input type="checkbox"/> 2. Schnitt für Eröffnung Proc. vaginalis	
Sas links	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/> Ja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 2. Schnitt für Durchtrennung	

XIII. DANKSAGUNG

An erster Stelle danke ich ganz besonders Herrn Prof. Dr. Mathias Ritzmann für die Überlassung dieses spannenden und aktuellen Themas. Vielen Dank für die außerordentlich gute Betreuung sowie für die Möglichkeit der Mitarbeit an der Klinik für Schweine.

Ebenfalls ganz herzlich bedanke ich mich bei meinen Betreuerinnen Frau Dr. Susanne Zöls und Frau Dr. Steffanie Senf für die großartige fachliche wie auch menschliche Unterstützung bei der Durchführung und Anfertigung dieser Arbeit. Vielen Dank auch an Frau Dr. Pauline Deffner, die stets ein offenes Ohr für meine Fragen hatte.

Ich danke allen Projektpartnern für die tolle Zusammenarbeit und dem gesamten LokaFer-Team für die immer sehr lustigen Stunden im Stall und OP.

Ein weiterer Dank geht an die Mitarbeiter der Versuchsstation in Thalhausen für die gute Mitarbeit in der Studie und die Betreuung der Tiere.

Bei Dr. Yury Zablotzki möchte ich mich ebenso herzlich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung dieser Arbeit bedanken.

Bei der Bundesanstalt für Ernährung und Landwirtschaft bedanke ich mich für die Finanzierung des Projektes sowie bei COST action CA15215 IPEMA für die Übernahme der Publikationskosten.

Außerdem möchte ich mich beim gesamten Team der Klinik für Schweine, auch bei allen ehemaligen Mitarbeitern bedanken. Vielen Dank für jede Hilfestellung sowie das angenehme Arbeitsklima, vor allem in Zeiten der Pandemie.

Meinen Freunden, insbesondere Eva und allen wunderbaren Menschen, die ich hier in München und Penzberg kennen lernen durfte, gilt ein herzliches Dankeschön. Vielen Dank für eure stetige Unterstützung und zahlreichen Aufmunterungen in jeder Lebenslage.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie und besonders meinen Eltern

dafür danken, dass Sie mir diesen Weg ermöglicht haben. Ohne eure liebevolle Unterstützung und euer Vertrauen wäre mir das nie möglich gewesen. Danke, dass ihr immer an mich glaubt. Ihr seid großartig und es ist wunderbar so eine Familie zu haben.